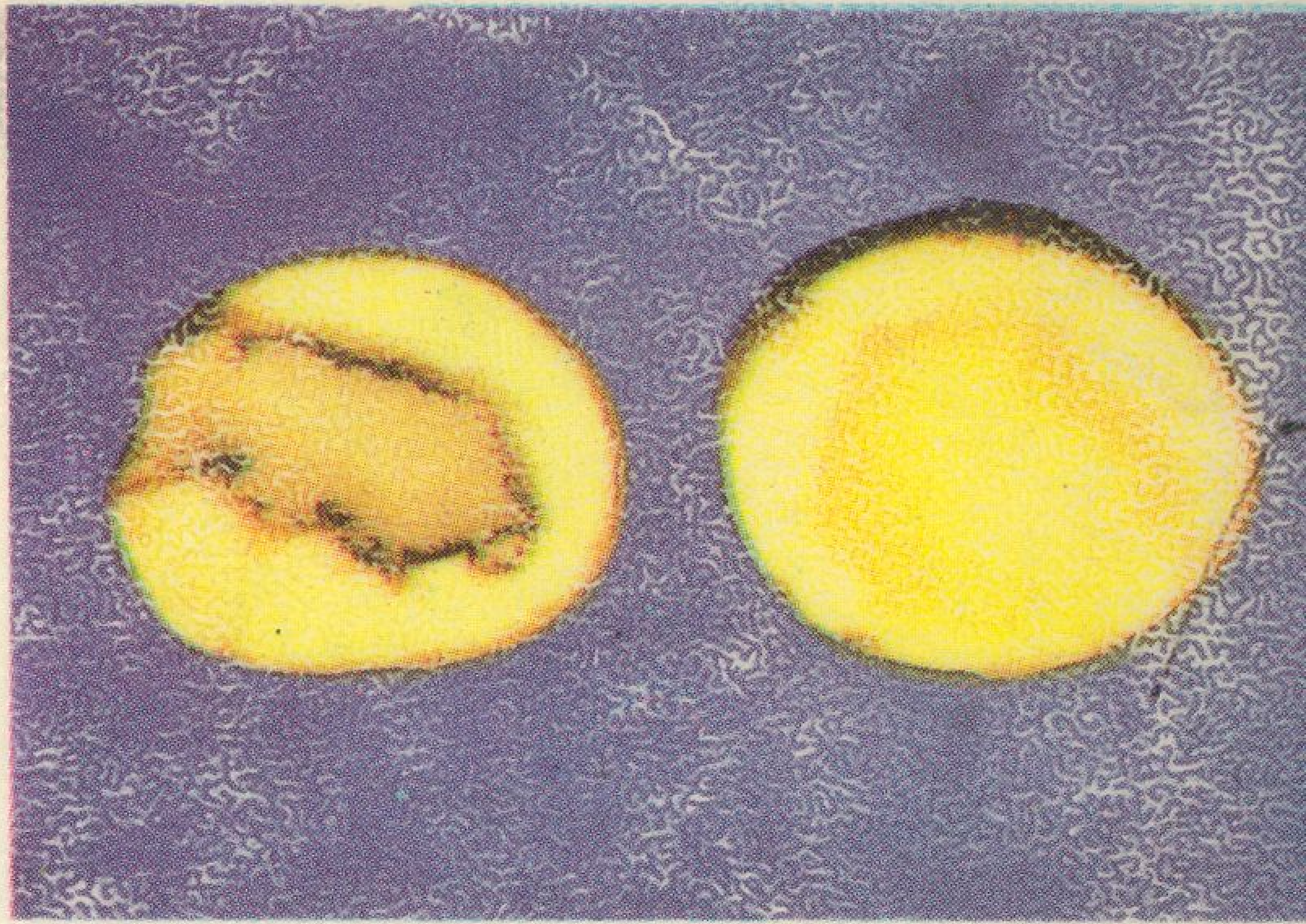
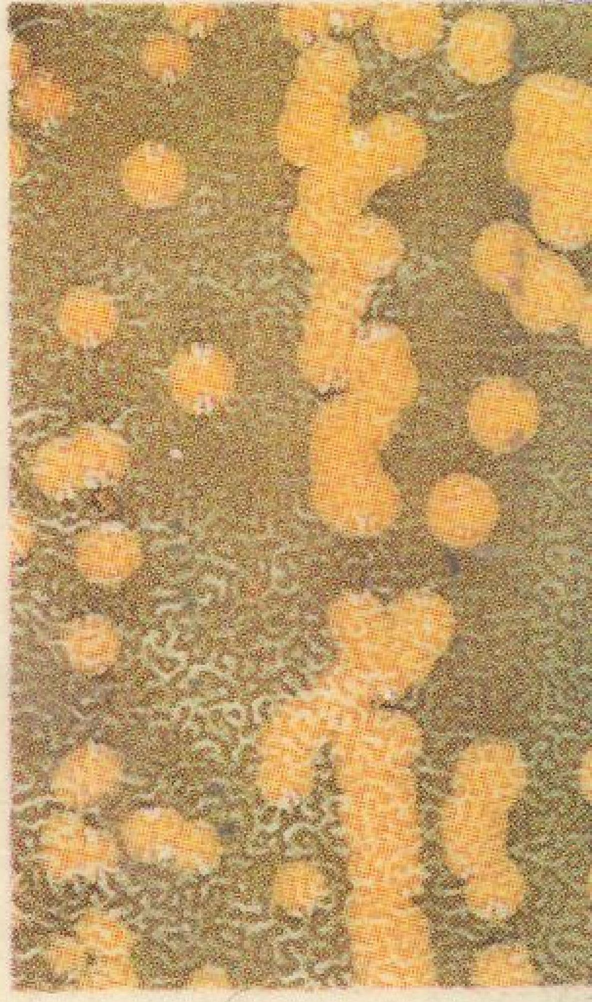


البكتيريا

الجزء الأول







دكتور
مصطفى كمال ابو الذهب

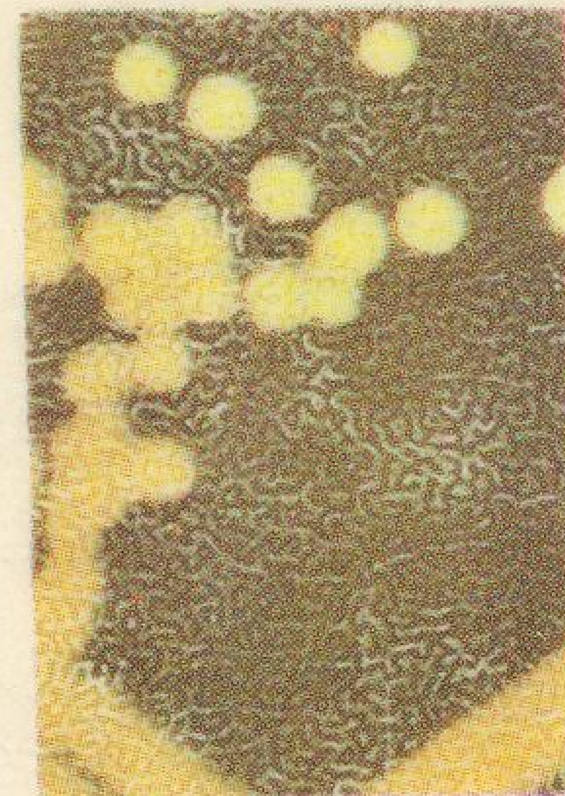
دكتور
محمد عبد القادر الجعرانى

كلية الزراعة ـ جامعة الاسكندرية

الطبعه الثانيه

١٩٨٤









دار المعارف

البكتيريا

الجزء الأول

٠٠٧٠٣

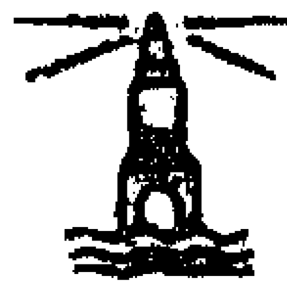
دكتور
مصطفى كمال أبو الذهب

دكتور
محمد عبد القادر الجعراني

كلية الزراعة - جامعة الإسكندرية

الطبعة الثانية

١٩٨٤



دار المعارف

بسم الله الرحمن الرحيم

تقديم الطبعة الثانية

بسم الله الذى يعلم الخبء فى السموات والأرض ، نقدم الطبعة الثانية من هذا الكتاب ، «البكتيريا» ، بعد انقضاء قرابة عشرون عاما على الطبعة الأولى والتى أعيد طبعها خلال هذه الفترة مرتين . وقد تعثرت هذه الطبعة ، وطال أمد اخراجها على غير ما كنا نرجو ونأمل .

والطبعة الثانية من هذا الكتاب ، لا تختلف عن ما جاء بالطبعة الأولى ، فى ترتيب أبوابها وتتابع فصولها ، لكن الأختلاف جاء فى بعض التفاصيل التى فرضتها مستحدثات العلم وتطوره ، وحذف بعض المواضيع رأينا أنها لاتواكب النظريات الحديثة ، ونقل معظم المواضيع ، ذات الطبيعة العملية ، إلى مكانها فى الجزء الثانى من هذا الكتاب «التدريبات المعملية» .

ولا نزعم أننا بذلك ، قد حققنا الغاية وبلغنا الكمال — فالكمال لله وحده — فلو أننا تتبعنا سيل الأبحاث العرم ، فى عصرنا الحديث ، وحاولنا أن يتضمنها هذا الكتاب عاما بعد عام ، بل يوما بعد يوم . لما قدر له أن يكون بين أيدينا ، كتابا يقرأ .

لكن على قدر علمنا ، أخرجنا هذا الكتاب ، متوخين البساطة فى العرض والتعبير آملين أن يكون نافعا ومفيدا ، للدارسين والباحثين لهذا المجال من العلم دون ما اسهاب ممل ، أو اختصار مخل .

والله المستعان ، وهو ولى التوفيق ، ، ،

يناير ١٩٨٤ المؤلفان

بسم الله الرحمن الرحيم

تقديم الطبعة الأولى

باسم الله الذى علم الأنسان مالم يعلم ، أقدم كتابى هذا للزملاء والدارسين ولكل مهتم بعلم البكتريولوجيا كما أقدمه للمكتبة العربية حصيلة لدراسات سنوات طويلة تفرغت فيها لهذا العلم . بحثا واستقصاء وتدريسا .

ولست أخفى على القارىء أنه حين اختمرت فى ذهنى فكرة اصدار هذا الكتاب — وقدرت ما يستلزمه من جهد مضن — ليكون مرجعا وافيا شاملا جامعا لكل دقائق هذا العلم ، لست أخفى ، إنى ترددت وطال ترددى ولكنى استعنت بالله فأعانى ، ووضعت قدمى فى أول الطريق وسرت فى رعايته غير مدخر وسعا ، ولا ضنينا بجهد حتى تم لى الفراغ منه على هذه الصورة بعد سنوات طويلة .

وعلم البكتريولوجيا من العلوم التى ظلت فترة طويلة يكتنفها الظلام الشديد ، ثم قيض الله لها رعيلا من العلماء والباحثين تصوفوا فى معاملهم ونذروا أنفسهم للبحث المتصل ليلا ونهارا حتى جلوا غوامضه وأناروا دروبه ومسالكه وبددوا وحشة ظلامه ، وإذا بنا أمام عالم كبير يموج بالبلايين من هذه الكائنات الحية الدقيقة التى نسميها البكتيريا . هذه الكائنات التى تلعب دورا من أهم الأدوار فى حياة الأنسان ، تجنح تارة إلى الشر والأذى فتسبب الكثير من الأمراض التى كان يقف الأنسان أمامها عاجزاً يرى مصارع أبنائه وأصدقائه وأعز الناس عليه وهو مكتوف اليد مشلول الفكر ، وتميل تارة إلى الخير فتقوم بدور فعال فى إسعاد البشرية بما تقدمه للزراعة والصناعة والطب من خدمات جلى .

وكان أكتشاف المجهر — الميكروسكوب — هو نقطة التحول، استطاع به العلماء أن يتعرفوا على عالم البكتيريا ويجوسوا خلاله ويروا هذه الكائنات

الدقيقة ويتتبعوا حياتها ويرصدوا أشكالها وأجناسها وتأثرها بالبيئات التي تعيش فيها . وكلما تقدمت صناعة المجهر كلما كشفت أنواع من البكتيريا أدق وأصغر .

وبعد أعوام من المشقة والجهد استطاع هؤلاء العلماء في مختلف البلاد وهم عاكفون في آلاف من الصوامع — يسمونها المعامل — أن ينتصروا على هذه الكائنات الدقيقة ويمسكوا بزمامها فأتاحوا للنافع منها أن ينمو ويتكاثر ويساهم في ميادين الزراعة والصناعة والطب بما فيه سعادة البشرية وخيرها ، وكبحوا جماح الضار منها وكسروا من عنفه وشراسته ووقوا الناس شره .

وهذا الكتاب — في أبوابه الست — يتضمن الكثير من الأبحاث والدراسات ويشمل خلاصة ما وصل إليه العلم من حقائق وتطبيقات . وقد حاولت جهدي أن أقدمها للقارىء متناسقة مترابطة واضحة بالرسم وبالصور . وأرجو أن أكون قد وفقت لملء الفراغ الواسع في المكتبة العربية لناحية هامة من نواحي التخصص .

وإني إذ أقدم كتابي هذا ، أقدمه وأنا راض عنه كل الرضا — في غير تيه ولا خيلاء — فكلنا أمام الخالق المعجز ضعفاء ، وأمام العلم صغار لم يشبوا عن الطوق .

فإذا استطعت أن أنال به رضا القارىء فحسبي ذلك عوضا عن كل ما بذلت .

على انى التمس الصفح والمغفرة عن هنات بغير قصد ، أو أخطاء بغير تصويب ، ولله وحده الكمال ، وهو ولي التوفيق .

دكتور مصطفى كمال أبـو الذهب

المحتويات

الباب الأول

الفصل الأول

الصفحة

تمهيـــد ١

علم الكائنات الحية الدقيقة ـ الكائنات ذات النواة البدائية (البروكاريوتات) ـ الكائنات ذات النواة الحقيقية (الأيوكاريوتات) ميكروبيولوجي التربة ـ ميكروبيولوجي الألبان ـ الميكروبيولوجيا الصناعية ـ التنقية الميكروبية للفضلات ـ مقاومة الحشرات ـ ميكروبيولوجي المياه أو البحار ـ ميكروبيولوجي الفضاء ـ الحرب الحيوية ـ توزيع الأحياء الدقيقة فى الطبيعة ـ المراجع .

الفصل الثانى

نبذة تاريخية ١٣

التولد الذاتى ـ التخمر ـ النظرية الميكروبية ـ عزل البكتيريا فى مزارع نقية ـ التحصين ـ الجراحة المعقمة ـ إضافات أخرى ـ المراجع . ...

الباب الثانى

الخلية البكتيرية : الصفات المظهرية والتركيب الداخلى ٢٩

الفصل الأول

الصفات المورفولوجية ٣١

حجم الخلايا البكتيرية ـ شكل وتجمع أو ترتيب الخلايا البكتيرية ـ

الصفحة

البكتيريا المستديرة — البكتيريا العصوية المستقيمة — البكتيريا ذات الشكل الحلزونى — الأشكال الأخرى للبكتيريا — الأكتينوميسينات — الكورينى بكتيريا — الميكوبكتيريا — البكتيريا الهلامية — المراجع ... ...

الفصل الثانى

التركيب الداخلى للخلية البكتيرية ٤٣

أولا : السطح الخلوى — الغلاف — الجدار الخلوى — صبغة جرام — التركيب الكيماوى للجدار الخلوى — البكتيريا الموجبة لجرام — البكتيريا السالبة لجرام — غياب الجدار الخلوى ... ...

ثانيا : البروتوبلاست — الغشاء السيتوبلازمى — الميزوسومات — الأجسام الكروماتينية أو النواة فى البكتيريا — الأيبيسومات والبلازميدات — الريبوسومات — حوامل الألوان — السيتوبلازم الذائب — حبيبات الجليكوجين — حبيبات الدهون — عديد الفوسفات غير العضوى — قطرات الكبريت — المراجع ... ...

الفصل الثالث

حركة البكتيريا ٨٥

تركيب السوط — الحركة فى البكتيريا — حركة البكتيريا التى تفتقر للأسواط — حركة الأسبيروكيتات — زوائد البيلى — المراجع . ...

الفصل الرابع

الجراثيم الداخلية ١٠٥

التركيب الداخلى للجرثومة—الخلية الجرثومية—جدار الجرثومة— القشرة — الغشاء الخارجي—الغلاف الجرثومى—الأكسوسبوريم — موضع الجرثومة من الخلية — خطوات تكوين الجراثيم الداخلية— الأجسام المصاحبة للجراثيم — فسيولوجيا التجرثم — التحكم فى التجرثم البكتيرى — المراجع ... ...

الباب الثالث

معيشة وتأقلم البكتيريا فى البيئات الطبيعية ١٢٥

الفصل الأول

نمو وتكاثر البكتيريا ١٢٨

عملية التكاثر الخلوى — تقدير النمو البكتيرى — أولا : تقدير عدد الخلايا — ثانيا : تقدير الكتلة الخلوية — ثالثا : تقدير النشاط الخلوى — دورة النمو — أولا : طور الركود — ثانيا : طور النمو اللوغاريتمى — ثالثا : الطور الثابت — رابعا : طور تناقص النمو أو طور الموت — المزرعة المستمرة — المجاميع المختلطة — المراجع ... ...

الفصل الثانى

الأحتياجات الغذائية ١٥٧

عوامل النمو — تقسيم البكتيريات من الوجهة الغذائية — بكتيريا ممثلة للضوء ذاتية التغذية — بكتيريا ممثلة للضوء غير ذاتية التغذية— بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية — بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية — التغذية المختلطة — التداخل الغذائى بين الكائنات — التغذية والتطور — المراجع ..

الصفحة

الفصل الثالث

الظروف الفيزيائية التى تؤثر على نمو البكتيريات ١٧٤
الحرارة — تأثير درجات الحرارة المنخفضة — تأثير درجات الحرارة المرتفعة — المقاومة الحرارية للجراثيم البكتيرية والبكتيريات الثرموفيلية — الضغط — الضغط الأسموزى — الأكسجين — تركيز أيون الأيدروجين — الاشعاع — المراجع ..

الفصل الرابع

تأثير العوامل الكيماوية على نمو وتكاثر البكتيريا ٢١٠
طرق تقدير التأثير السام للمواد الكيماوية — أولا : طرق يستعمل فيها البيئات الغذائية السائلة — ثانيا : طرق تستعمل فيها البيئات الصلبة — الغشاء السيتوبلازمى — السيتوبلازم — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمى — الفينول ومركباته — الكحولات — اليود — الهيبوكلوريتات — الكلورامينات — فوق أكسيد الأيدروجين — المعادن الثقيلة — الصبغات — الصابون والمركبات الخافظة للتوتر السطحى — مركبات الأمنيوم الكواتيرنارية — تأثير المواد الكيماوية نتيجة تعطيلها لعمليات أيضية معينة — المضادات الحيوية — مقاومة البكتيريات للمضادات الحيوية — الصفات الواجب توافرها فى المضادات الحيوية — ثالثا : الأجسام الكروماتينية أو النواة — المراجع . ...

الباب الرابع

وراثة البكتيريا ٢٥٧

الصفحة

الفصل الأول

التطفر ٢٦٠

الأدلة على حدوث الطفرات بالخلايا البكتيرية — اختبار التذبذبات — الأساس الجزيئي للتطفر — معدل التطفر — أنواع الطفرات البكتيرية — الطفرات البيوكيمائية — الطفرات التلوينية — الطفرات المختلفة في الصفات التخمرية — الطفرات المقاومة لتأثير المواد السامة — التطفر الذي يؤثر على الصفات المظهرية للمستعمرات احداث الطفرات صناعيا — المراجع . ...

الفصل الثاني

التصنيفات غير التطفرية ٣٠٠

التحورات — التطبع — طرق التأقلم الأنزيمي — علاقة التطبع الأنزيمي بالوراثة — التطبعات المتلاحقة — تدخل مواد التفاعل في تكوين الأنزيمات التأقلمية — البلازميدات — المراجع ... ...

الفصل الثالث

إعادة تشكيلات الصفات الوراثية في البكتيريات المتزاوجة جنسيا ... ٣١٦

كيفية حدوث العبور بالكائنات الراقية — حدوث العبور بسلالة البكتيريا — ميكانيكية حدوث التكاثر الجنسي في البكتيريا — إنتشار ظاهرة إعادة التشكيل الوراثي بالبكتيريا المختلفة — بعض المواضيع التي تختبر عن طريق دراسة اعادة التشكيل الوراثي للبكتيريات — المراجع ... ...

الفصل الرابع

ظاهرة التحول الوراثي ٣٣٥

الصفحة

ظاهرة التحول المعروفة باسم Transformation — التحولات المتضمنة طرزا غلافية متوسطة — التحولات الوراثية المتضمنة صفات أخرى غير صفة التغليف — ميكانيكية التحول—ظاهرة التحول المعروفة باسم Transduction — أهمية ظاهرتى التحول الوراثى فى الدراسات البكتيريولوجية المختلفة — المراجع.

الباب الخامس

التفاعلات الأيضية البكتيرية ٣٥٣

الفصل الأول

الأنزيمات البكتيرية ٣٥٥

طرق دراسة الأنزيمات البكتيرية — طبيعة الأنزيمات البكتيرية طبيعة النشاط الأنزيمى — أنواع الأنزيمات البكتيرية — أولا : الأكسدة والاختزال — ثانيا : التحلل المائى — ثالثا : إزالة مجاميع الأمين — رابعا : إزالة مجاميع الكربوكسيل — خامسا : عمليات الفسفرة — الظروف التى تؤثر على تكوين الأنزيمات بالخلايا البكتيرية — التركيب الكيماوى للبيئة — العوامل الفيريوكيمائية — درجة pH البيئية — طرق تعادلية — طريقة وقائية — درجة حرارة النمو — عمر المزرعة — المراجع ... ...

الفصل الثانى

تفاعلات إزالة الأيدروجين والتنفس ٣٩٣

التنفس كوسيلة للوصول إلى الأكسجين الغازى — طريق الأكسدة المباشرة — طريق السيتوكروم غير المباشر — وظائف الطرق التنفسية — تأثير باستير — الفسفرة التأكسدية — التمثيل

الصفحة

البنائى التأكسدى — مستقبلات الأيدروجين الأخرى غير الأكسجين الغازى — الكائنات التى تستعمل الأكسجين المرتبط فقط — الكائنات التى تستعمل كل من الأكسجين الغازى والأكسجين المرتبط — البكتيريات غير الهوائية اجبارا — المراجع

الفصل الثالث

التحولات الأيضية للكربوايدرات ٤١٧

إنطلاق الطاقة — تفاعلات حمض البيروفيك — تفاعلات حمض الأسيتواستيك — تفاعلات حمض الستريك — العمليات البنائية للكربوايدرات — تكوين عديدات التسكر — تكوين الصموغ أو المواد اللزجة — السليولوز البكتيرى — تخزين الكربوايدرات بالخلايا البكتيرية — المراجع. ... ...

الفصل الرابع

التحولات الأيضية للمواد النيتروجية ٤٥٣

هدم البروتينات — دورة النيتروجين — تثبيت النيتروجين — التحولات التى تتم بين النيتروجين البكتيرى والأمونيا — التأزت إختزال الآزوتات إلى أمونيا عملية عكس التأزت — تحول الأمونيا إلى مجاميع أمينية — طريق الفيومارات — طريق الكيتوجلوتارات — التفاعلات العامة للأحماض الأمينية — عمليات التحول الأمينية — تفاعلات إزالة ثانى أكسيد الكربون — تفاعلات فصل المجاميع الأمينية — تفاعلات خاصة بأحماض أمينية معينة — الأحماض الأمينية الحلقية — بناء البروتين — المراجع

الفصل الخامس

التحولات الأيضية للمواد الأخرى ٤٩٣

التحولات الأيضية للدهون — التحولات الأيضية للستيرويدات

الصفحة

التحولات الأيضية للمركبات الحلقية العطرية — التحولات الأيضية للأحماض النووية والبيورينات والبريميدينات—المراجع ..

الباب السادس

التعرف على البكتيريات وتقسيمها ٥١٥

الفصل الأول

التعرف على البكتيريات ٥١٧
التركيب الأنتيجينى — أنواع التفاعلات السيرولوجية-التفاعلات التى تتم بالسوائل تفاعلات البيئات الصلبة — الدراسات التى تتطلب طرقا سيريولوجية — تحضير الأمصال المضادة — إختيار الحيوان المناسب — جمع وتخزين وتجزىء الأمصال — تحضير الأنتيجين لأغراض الحقن — الأنتيجينات غير الذائبة — الأنتيجينات الذائبة — طرق الحقن ومواعيدهاو كمية الأنتيجينات المحقونة — الأستنزاف الأختبارى أو النهائى — الطرق الوصفية لأستعمال الأمصال المضادة — الأختبارات التابلدية — الأختبارات للماكروسكوبية — الطريقة الميكروسكوبية — اختبارات امتصاص الملبدات — اختبار الترسيب — اختبار تثبيت المواد المكملة — الطرق السيرولوجية الكمية — التفاعلات التى تتم فى السوائل — التفاعلات التى تجرى فى البيئات الشبه صلبة — الأتجاه الجزيئى والوراثى فى التقسيم — تركيب الـ DNA — التهجين فى الـ DNA الأتجاه الوراثى فى التقسيم — المراجع ... ...

الفصل الثانى

تقسيم البكتيريا ٥٤٥
تسمية البكتيريا — الأسماء العلمية — تقسيم البكتيريا — النوع — الجنس — العائلة —الرتبة — الصف—الجزء الأول : البكتيريا الممثلة للضوء —الجزء الثانى : البكتيريا الزاحفة — الجزء الثالث : البكتيريا

المغلفة-الجزءالرابع : البكتيريا المتبرعمة-الجزءالخامس : الأسبيروكيتات الجزء السادس : البكتيريا المنحنية والحلزونية — الجزء السابع : البكتيريا العصوية أو الكروية الهوائية والسالبة لصبغة جرام — الجزء الثامن : العصويات غير الهوائية إختيارا والسالبة لجرام — الجزء التاسع : البكتيريا غير الهوائية والسالبة لجرام — الجزء العاشر : بكتيريا كروية وعصوية كروية وسالبة لجرام—الجزء الحادى عشر : الكرويات غير الهوائية والسالبة لجرام — الجزء الثانى عشر : البكتيريا ذاتية التغذية إجبارا والممثلة كيماويا والسالبة لصبغة جرام — الجزء الثالث عشر : البكتيريا التى تنتج الميثان — الجزء الرابع عشر : الكرويات الموجبة لجرام — الجزء الخامس عشر : العصويات والكرويات التى تكون جراثيم داخلية — الجزء السادس عشر : البكتيريات العصوية غير المتجرثمة والموجبة لجرام — الجزء السابع عشر : الأكتينوميسيتات والكائنات القريبة منها — الجزء الثامن عشر : الريكيتزيات — الجزء التاسع عشر : الميكوبلازمات — المراجع

الفصل الثالث

الفيروسات ٦٣٥

خصائص الفيروسات — تركيب الفيروسات — تكاثر الفيروسات طرق زرع الفيروسات — تطفر الفيروسات — طرق مقاومة الفيروسات — الفيروسات البكتيرية — أهمية الفيروسات البكتيرية فى الدراسات البكتيريولوجية — المراجع ... ...

الباب الأول

الفصل الأول

تمهيد

لقد كان لإختراع المجهر واستعماله فى مشاهدة الأشياء الدقيقة أثر كبير فى اكتشاف عالم جديد من الكائنات الدقيقة والتى كان يصعب رؤيتها من قبل .

وقد أيقن الإنسان فيما بعد أن هذه المخلوقات الدقيقة ذات قوة جبارة ومقدرة فائقة ، فهى قادرة على أن تجعل من الرجال الأقوياء الأصحاء مرضى وأن للبعض الآخر منها القدرة على تحويل المواد الصلبة إلى مخلفات ضعيفة ، كما أن منها أيضاً ما يمكنه تحويل الأطعمة الشهية إلى سموم ناقعة ، كما تيقن الإنسان أيضاً أن من هذه الكائنات ما يمكنها أن تقلل من انتاج المحاصيل المختلفة نتيجة لإصابتها للنبات محدثة له أمراضاً مختلفة .

وما لبث الإنسان أيضاً أن تعرف على أن من الكائنات الحية الدقيقة هذه ماهو نافع له فى نواحى حياته المتشعبة بالرغم من كثرة تعداد الكائنات النافعة للإنسان إلا أن أهميتها الإقتصادية لم تتبين له إلا منذ قرن واحد مضى ، وفى خلال هذه الحقبة من الزمن سخر الإنسان هـذه الكائنات فى انتاج كثير من المواد الكيماوية من العصارات النباتية المتخمرة ، كالكحول والخل والاسيتون كما إستغل هذه الكائنات أيضاً فى إنتاج المضادات الحيوية التى أمكن عن طريقها علاج كثير من الأمراض الميكروبية التى كان يستعصى علاجها من قبل . كما إستطاع الإنسان أن يعرف الدور الهام فى زيادة خصوبة الأراضى والذى تقوم به محتويات الأرض من الكائنات الحية الدقيقة ، فتبين له أنها تعمل على التخلص من البقايا العضوية نباتية كانت أو حيوانية

وتمنع تكدسها بالتربة ، وأنها تهدم أو تحلل المواد البروتينية والكربوايدراتية المعقدة محولة إياها إلى مواد أبسط تعقيداً يسهل على النباتات المنزرعة إستعمالها كمواد غذائية . كما تعرف الإنسان على الكائنات التى تسكن التربة ولها قدرة على إستغلال الآزوت الجوى وتحويله إلى الصور الصالحة لتغذية النباتات .

ولكى يأخذ القارىء فكرة عن أهمية الدور الذى لعبه علم الكائنات الحية الدقيقة خلال الخمسين سنة الماضية يكفى أن نبين أن زيادة متوسط عمر الإنسان فى هذه الفترة من الزمن إنما يرجع إلى نشاط علماء الميكروبيولوجيا فى التوصل إلى طرق مقاومة الميكروبات الضارة التى كانت تسبب خسائر فادحة فى الأموال والأنفس ، ومما هو جدير بالذكر أن كثرة الوفيات فى أوائل القرن الحالى كانت ترجع غالباً إلى تفشى الأمراض الوبائية التى تسببها البكتيريا والفيروسات والبروتوزوا ، فى حين أن أغلب ما يسبب الوفيات حالياً وبخاصة فى الدول المتحضرة يرجع إلى الأمراض العضوية كأمراض القلب والكلى والتورمات الخبيثة وإلى حوادث الطيران والسيارات .

علم الكائنات الحية الدقيقة Microbiology

كلمة Microbiology مشتقة من كلمة *Micrus* اليونانية وتعنى دقيق و *bius* وتعنى الحياة و *Logos* وتعنى علم وعلى ذلك فالكلمة تعنى علم الكائنات الحية الدقيقة والذى يختص بدراسة الكائنات الحية الدقيقة والنشاط الذى تقوم به . وهذه الكائنات الصغيرة التى لا يمكن أن نشاهدها بالعين المجردة ، وعلى ذلك فالكائنات الحية الدقيقة تشمل الفطريات والخمائر والطحالب والبكتيريا والريكتزيا والفيروسات والميكوبلازما والبروتوزوا .

ويلاحظ أن الكائنات الحية الدقيقة تشمل كائنات تشبه النباتات وكائنات تشبه الحيوانات وكائنات أخرى لها صفات مشتركة بين النباتات والحيوانات

وهذه لا يمكن إدراجها لا فى المملكة الحيوانية ولا فى المملكة النباتية ولذلك اقترح E.H. Haeckel عالم الحيوان الألمانى فى سنة ١٨٦٦ مملكة جديدة تسمى Kingdom Protista لتشمل الكائنات وحيدة الخلية التى وصفت فى المملكة النباتية أو فى المملكة الحيوانيـــة مثل البكتيريا والطحالب والفطريات والبروتوزوا . وهى تشمل كائنات أهم ما يميزها أنها وحيدة الخلية وقد تكون متعددة النوى أو عديدة الخلايا دون ما تمييز لأعضاء معينة Without differentiation ويلاحظ أنها تشمل كائنات ممثلة للضوء أو غير ممثلة للضوء وبعضها يشبه النباتات والبعض الآخر يشبه الحيوانات إلا أن منها ما لها صفات من النبات والحيوان معاً وقد أدى ذلك الأمر إلى تقسيم هذه الكائنات فيما عدا الفيروسات إلى مجموعتين كبيرتين وهما :

١ — الكائنات ذات النواة البدائية (البروكاريوتات) Procaryotes

٢ — الكائنات ذات النواة الحقيقية (الإيوكاريوتات) Eucaryotes

وفيما يلى بعض الصفات الأساسية التى تميز الكائنات ذات النواة البدائية عن الكائنات ذات النواة الحقيقية :—

١ — طبيعة الجهاز الحامل للصفات الوراثية Genophore فى البروكاريوتات يتكون من الناحية المرفولوجية مما يعرف بالــ nucleoplasm وهو يتكون من تركيب دائرى مفرد من شريط مزدوج من الــ *DNA* لا ينفصل عن السيتوبلازم بأى غشاء أو جدار ويتكاثر أو يتكرر عن طريق إنفراج خيطى الحلزون المزدوج للـــ *DNA* unwinding ويأخذ كل طرف منهما فى تكوين خيط متكامل أمامه. وهذا التركيب المورفولوجى هو الجهاز الوراثى بالخلية والذى يتخذ فى كثير من الأحيان شكل حلقة أو دائرة مغلقة ويعرف حينئذ بالكروموسوم الدائرى Circular chromosome وتمثل محتوياته من الجينات وحدة عبورية مفردة . أما فى حالة خلايا الإيوكاريوتات فتمتلك

نواة يحيط بها غشاء نووى وأن هذه النواة تتكاثر أو تتكرر عن طريق الإنقسام غير المباشر mitosis .

فرق آخر هو غيــاب البروتين القاعدى الهيستون histones من DNA فى خلايا الكائنات ذات النواة البدائية ووجوده يعتبر جزء متمم لتركيب الكروموسوم فى خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية .

٢ — غياب الأغشية المحددة للتراكيب السيتوبلازمية فى الكائنات ذات النواة البدائية حيث أن هذه الأغشية إن وجدت تكون إمتدادات من الغشاء السيتوبلازمى للخلية .

ويلاحظ أن صبغات التمثيل الضوئى توجد فى الخلية النباتية داخل تركيب يحاط بغشاء واضح هى البلاستيدات الخضراء فى حين أن الخلايا ذات النواة البدائية إن وجدت بها صبغات للتمثيل الضوئى فإنها إما أن توجد بداخل حويصلات vesicles محاطة بامتدادات للغشاء السيتوبلازمى أو فى أكياس غشائية رقيقة جداً تحاط أيضاً بامتداد للغشاء السيتوبلازمى . أما الحويصلات التى تشاهد فى البكتيريا *Chlorobium* الممثلة للضوء فتعتبر تركيبات فريدة من نوعها لإحتوائها على الكلوروفيل والكاروتينويدات carotinoides والبكتيريا الخضراء تتميز بعدم وجود غشاء يحيط بالحويصلات بها بل تحدد من الخارج بطبقة من جزيئات الكلوروفيل ، وهذه لا توجد فى الإيوكاريوتات .

كذلك فإن إنزيمات التنفس لخلايا الكائنات ذات النواة البدائية توجد فى الغشاء السيتوبلازمى فى حين أن مثل هذه الإنزيمات توجد فى خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية فى أجسام غشائية متخصصة داخل الخلية تسمى الميتوكوندريا .

لاتكون خلايا الكائنات ذات النواة البدائية فجوات تخزينية storage vaculoes وبذلك فإن المواد المخزنة مثل الجليكوجين توجد حرة فى السيتوبلازم .

٣ — الريبوسومات فى الكائنات ذات الأنوية البدائية صغيرة الحجم لها ثابت ترسيب 70 S* sedimentation constant فى حين أنها فى الكائنات ذات النواة الحقيقيـة أكبر حجماً وذات ثابت للترسيب S 80 . والريبوسومات فى الحالة الأولى موزعة فى السيتوبلازم وليست منتظمة على الشبكة الإندوبلازمية Endoplasmic reticulum كما هو الحال فى الكائنات ذات النواة الحقيقية .

٤ — الجدار الخلوى فى الكائنات ذات النواة البدائية يتميز بوجود مادة فريدة فى تركيبها الكيماوى وهى عبارة عن الميورين murein (الميوكوبيتيد mucopeptides) وهذا المركب لا يوجد إطلاقاً فى جدار الخلايا ذات النواة الحقيقية .

٥ — الأسواط flagella التى تحملها الكائنات البروكاريوتية تختلف عن الأهداب cilia التى تحملها الخلايا الإيوكاريوتية من حيث صفاتها المورفولوجية والكيماوية .

٦ — الفقاقيع الغازية تعتبر من أهم مميزات الطحالب الخضراء المزرقة وتوجد أيضاً فى بعض أجناس البكتيريا .

٧ — الخلايا ذات النواة البدائية عاجزة عن تخليق المركبات الاستيرولية

والجدول ١ ، يبين ملخصاً للفروق بين خلايا الكائنات ذات النواة البدائية (البروكاريوتات) وخلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية (الايوكارتات)

S* = وحدة سفد بارج Svedberg unit (حجم الريبوسومات تدل عليه السرعة التى تترسب عليها خلال الطرد المركزى ultracentrifuge (قيم S) وكلما كانت قيم S كبيرة كان الجزىء أثقل وأكبر حجما) .

جدول ١ : الفروق التركيبية والوظيفية بين خلايا الكائنات ذات النواة البدائية والخلايا ذات النواة الحقيقية .

الصفة	خلايا الكائنات ذات النواة البدائية Procaryotic	خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية Eucaryotic
عدد الكروموسومات لكل منطقة نووية	١	٣ أو أكثر
تكرار الكروموسوم بالإنقسام غير المباشر	−	+
والغشاء حول المنطقة النووية	−	+
مصاحبة الهستونات للكروموسومات	−	+
الأغشية المحددة التركيب السيتوبلازمية	إذا وجدت تكون امتدادات من الغشا السيتوبلازمى	+
جود الميتوكوندريا	−	+
وجود البلاستيدات الخضراء	−	+ فى النباتات
وجود الفجوات التخزينية	−	+
حجم الريبوسومات	S 70	S 80
احتوائها على الأحماض الأمينية من النوع D	±	−
إحتوائها على حمض الداى أمينو بيميلك*	±	−
إحتوائها على حمض الميوراميك*	±	−
وجود الشبكة الأندوبلازمية	−	+
وجود جهاز جولجى Golgi	−	+
وجود الليزوزومات Lysosomes	−	+ فى الحيوانات ± فى النباتات

* دليلا على وجود الميوكوببتيد

مما تقدم يتضح أن الكائنات ذات النواة البدائية أو البروكاريوتات Procaryotes جديرة بأن توضع فى وحدة تقسيمية على أعلى مستوى ألا وهى المملكة واقترح لها اسم مملكة الميكروبات Kingdom of microbes إلا أنه فى الطبعة الثامنة لمرجع بيرجى Bergey's Manual of Determinative Procaryotae Bacteriology (١٩٧٤) إقترح لهذه المملكة ما يأتى : —

Kingdom Procaryotae

Division I Phototrophic procaryotes (Photobacteria)

Class I : Blue-green photobacteria

Class II : Red photobacteria

Class III : Green photobacteria

Division II : Procaryotes indifferent to light (Scotobacteria)

Class I The bacteria

Class II : Obligate intracellular scotobacteria in eucaryotic cells — Rickettsias

Class III : Scotobacteria without cell walls — Mollicutes

ويقسم علم الكائنات الحية الدقيقة طبقاً لطبيعة الكائنات موضوع الدراسة إلى ماياتى

١ — علم البكتيريا Bacteriology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة البكتيريات .

٢ — علم الفطريات Mycology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة الفطريات والخمائر .

٣ — علم الطحالب Phycology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة الطحالب .

٤ — علم الفيروسات Virology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة الفيروسات .

٥ — علم البروتوزوا Protozoology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة البروتوزوا ومنه فرع يختص بدراسة البروتوزوا التى تسبب الأمراض ويسمى Parasitology .

٦ — وهناك علم جديد يتخصص فى دراسة الكائنات الدقيقة التى تصنف تحت الميكوبلازمات والريكتزيات او الكائنات الشبيهة بها .

ويمكن تقسيم علم الميكروبات أيضا تبعاً لتطبيقاته المختلفة إلى ما يأتى :—

١ — ميكروبيولوجى التربة : **Soil Microbilogy**

وهو العلم الذى يختص بدراسة ميكروبات التربة على إختلاف نوعيتها وطبيعتها فهو يهتم بالكائنات الحية الدقيقة التى تزيد من خصوبة التربة عن طريق تحويل الأزوت الجوى إلى مركبات آزوتية (تثبيت الأزوت nitrogen fixatoion) تستعمل بواسطة النبات لبناء البروتين . وكذلك يهتم بالكائنات الحية الدقيقة أيضاً التى تعيش فى التربة وتحلل المركبات العضوية إلى مركبات غير عضوية وبذلك تجعلها فى صورة متاحة للنبات . أى تحول الأنسجة الحيوانية والأنسجة النباتية إلى مواد غير عضوية وبذلك تجعل التربة أكثر خصوبة عن طريق توفير المواد الغذائية الصالحة لتغذية النبات . وتعتبر هذه الخطوات عمليات معقدة تقوم بها كثير من الكائنات الحية الدقيقة. ولكى نأخذ فكرة عن مدى احتواء التربة الزراعية من الكائنات الحية الدقيقة فقد وجد أن مساحة ٤٠٠٠ متر مربع وهى ماتقرب من الفدان بعمق ٣٠سم من التربة الخصبة يحتوى على ما يقرب من ١٠٠٠ رطل من البكتيريا وربما على نفس الكمية من الفطريات والبروتوزوا . وعموما فيمكن القول بأنه كلما زادت الكائنات الحية الدقيقة فى التربة كلما زادت خصوبتها وإنتاجيتها .

٢ — ميكروبيوجى الألبان : **Dairy Mictobilogy**

يهتم هذا العلم بالكائنات الحية الدقيقة التى لها علاقة بمنتجات الألبان مثل

الجبن واللبن الزبادى وغيرها والكائنات الحية الدقيقة لها دور حيوى كبير فى تغذية الحيوانات المجترة كالبقر والجاموس والغنم والماعز والتى تتميز بوجود معدة متعددة الغرف الغرفة الأولى منها وهى الكرش rumen تستعمل فى تخزين الغذاء وتنمو بها عديد من الكائنات الحية الدقيقة . وهذه الكائنات الحية الدقيقة تحلل السيليلوز بداخل الكرش وتبنى البروتين والفيتامينات والدهون بداخل خلاياها وهذه الخلايا الميكروبية عند موتها يستعملها الحيوان كمصدر للبروتين وغيره من مصادر الغذاء. وبذلك تتحول المواد السليولوزية الصعبة التحلل وذات القيمة الغذائية المنخفضة إلى لحم أو لبن داخل جسم الحيوان المجتر .

٣ — الميكروبيولوجيا الصناعية : Industrial Microbiology

الأدوية والمواد الغذائية والكحول والانزيمات والأحماض العضوية كل ذلك أمثلة لبعض المواد التى تنتج على نطاق تجارى بالاستعانة بالكائنات الحية الدقيقة . ويتم إنتاج مثل هذه المواد باستعمال بيئات رخيصة نسبياً وتنمى عليها البكتيريا أو الخمائر أو الفطريات أو الطحالب .. الخ .

٤ — التنقية الميكروبية للفضلات : Microbilogical Purification of wastes

يمكن أن تستعمل الكائنات الحية الدقيقة لتنقية الفضلات الإنسانية وذلك بتنميتها فى وحدات تصرف اقذار البالوعات حيث تحلل وتؤكسد المواد العضوية كما تحطم الكائنات الممرضة ويمكن إستعمالها أيضاً فى تحليل المنظفات الصناعية detergents التى تستعمل فى عمليات التنظيف فى المصانع وغيرها . والفضلات الضارة المتخلفة عن المنازل وعن الصناعة والتى تقذف فى البحار أو المصارف يمكن تحويلها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة إلى مواد لا تضر بالأسماك وغيرها من الكائنات المائية //فمثلا المركبات الفينولية الناتجة عن تكرير البترول يمكن تحليلها بواسطة أنواع معينة من البكتيريا . والوقود الذى يحتوى على كبريت ينتج عن إحتراقه أكاسيد ضارة تسبب تلوث الجـــو

الآن وجود البكتيريا *Thiobacillus ferrooxidans* تختزل هذه الأكاسيد قبل تلويثها للجو .

٥ — مقاومة الحشرات : Control of Insects

الحشرت التى تلتهم المحاصيل أو التى تحمل كائنات ممرضة للانسان أو الحيوان أو النبات يمكن أن تكون عرضه للامراض ولحسن الحظ فان الكائنات الدقيقة الممرضة للحشرات لا تضر النبات أو الحيوان ، كما أن البكتيريا والفيروسات التى تسبب أو بئة بين الحشرات الضارة لا تضر الحشرات النافعة مثل نحل العسل .

ويوجد اتجاه مماثل وهو استعمال الكائنات الحية الدقيقة فى مجال مقاومة الأمراض النباتية .

٦ — ميكروبيولوجى المياه أوالبحار : **Aquatic (or Marine) Microbilogy**

الكائنات الحية الدقيقة موجودة فى البحـــار وفى المياه العذبة وهذه الكائنات الحية الدقيقة تمثل جزء حيوى هام حيث أنها توفر العناصر الغذائية اللازمة للحياة البحرية . كما يشمل هذا العلم تحليل مصادر مياه الشرب قبل وبعد إعدادها حتى نضمن خلوها من الأحياء الدقيقة الممرضة .

٧ — ميكروبيولوجى الفضاء : **Space Microbilogy**

ويطلق عليه فى بعض الأحيان Exobiology وهو العلم الذى يبحث فى إمكانية وجود الكائنات الحية الدقيقة فى الفضاء الخارجى وعلى الكواكب وكيفية تأقلم الأنواع الأرضية على هذه الكواكب إذا ماتلوثت الأخيرة عن طريق مركبات الفضاء. وكذلك يستغل هذا العلم بعض الكائنات الحية الدقيقة لاستعمالها كمصدر لغذاء الإنسان وللحصول على الطاقة وكذلك للحصول على التوازن المرغوب بين الأوكسجين وثانى أكسيد الكربون بداخل مركبات الفضاء .

٨ — الحرب الحيوية : Biological Warfare (BW)

يقصد بهذا النوع من الحروب إستعمال الكائنات الحية أو نواتجها السامة لإحداث موت أو تحطيم للانسان وكذلك حيواناته النافعة ونباتاته الإقتصادية. وهذه التسمية أوسع مما هو معروف بالحرب البكتريولوجية أو الجرثومية Bacteriological or germ warfare حيث أنها تشمل إستعمال كل أنواع الكائنات الحية الدقيقة وكذلك الأشكال الأرقى من الحياة مثل الحشرات وغيرها من الآفات. والبحوث فى هذا الاتجاه تعتبر بحوثاً مدمرة للحياة إلا أن الطرق الدراسية والمعلومات التى قد تتكشف عنها للوقاية ضد الحرب الحيوية ستزيد من قدراتنا على مقاومة الأمراض المستعصية فى الحياة الطبيعية عندما تتوقف الحروب .

توزيع الأحياء الدقيقة فى الطبيعة:

توجد الأحياء الدقيقة فى الطبيعة فى كل مكان تقريباً فهى تحمل بواسطة تيارات الهواء وفى التربة وفى مياه المحيطات ماقرب من سطحها وما بعد فى أغوارها ومياه الترع والأنهار والبرك والمستنقعات وفى الإفرازات الحيوانية وعلى جلود الحيوانات وبالأمعاء وفى دم الحيوانات فى الحالات المرضية حيث أن دم الحيوانات السليمة خاليا تماماً من الكائنات الحية الدقيقة.

والكائنات الحية الدقيقة توجد أينما وجد الغذاء وتوفرت الرطوبة والحرارة الملائمة لنموها وتكاثرها وكلما بعدت عن ما يوقف أو يمنع نموها من عوامل فيزيائية أو كيماوية أو حيوية .

ومن المعروف أن الظروف الملائمة لحياة الإنسان تعتبر ملائمة لحياة هذه الأحياء الدقيقة . فنحن نعيش وسط عالم كبير من الأحياء الدقيقة فهى فى الهواء الذى نستنشقه وفى الغذاء الذى نأكله ، وعلى سطوح أجسامنا وداخل

أمعائنا . ومن حسن الحظ أن الغالبية العظمى من الأحياء الدقيقة ليست ممرضة وأن لجسم الإنسان فى حالته الطبيعية القدرة على وقاية نفسه من أضرار هذه الكائنات .

والأحياء الدقيقة منها ما هو متطفل إجبارا Obligate parasites أى يعيش فى أو على الخلايا الحية فقط ومنها ما هو متطفل إختيارا Facultative Parasites حيث يمكنه أن يعيش فى أو على الخلايا الحية بعض الوقت وعلى البقايا الحيوانية والنباتية فى البعض الآخر من الوقت كما أن منها كائنات غير متطفلة إطلاقا تعرف بالكائنات المترممة Saprophytes وهذه تعيش طول الوقت على بقايا النباتات والحيوانات ومخلفاتها .

المـــراجع

Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eight Edition.. The Williams and Wilkins Company - Baltimore. 1268 p.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1035 p.

Levy, J., J. J. R. Compbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York. 684 p.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Second Edition. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.

Pelczar, M.J. and R.D. Reid. 1965. Microbiology. Second Edition. Mc Graw-Hill Book Company, New York York. 662 p.

Stanier, R Y., M. Doudoroff, and E.A. Adelberg. 1972. General Microbiology. The Macmillan Press LTD, London 873 p.

الفصل الثانى

نبذة تاريخية

لقد ساعد فى تطور علم الأحياء الدقيقة بصفة عامة وعلم البكتيريا بصفة خاصة عدد من العلماء تمكنوا من إقناع العالم بأهمية الكائنات الحية الدقيقة وبالدور الذى تلعبه فى رفاهية البشرية أو فى نكبانها . كما إستحدث هؤلاء العلماء الطرق المختلفة لدراسة هذه الكائنات مما أدى إلى زيادة التعرف عليها وإلى نمو هذا العلم وتقدمه خلال فترة وجيزة من الزمن . وسوف نرى أن تاريخ علم الكائنات الحية الدقيقة شأنه شأن سائر العلوم الأخرى ملىء بالإكتشافات الهامة . وعموما فإن الإنسان قد إنتصر فى كثير من المعارك التى قامت بينه وبين الميكروبات فى ميدان البحوث والتى أسفرت عن إمكانية تسخير هذه الكائنات لصالح البشرية .

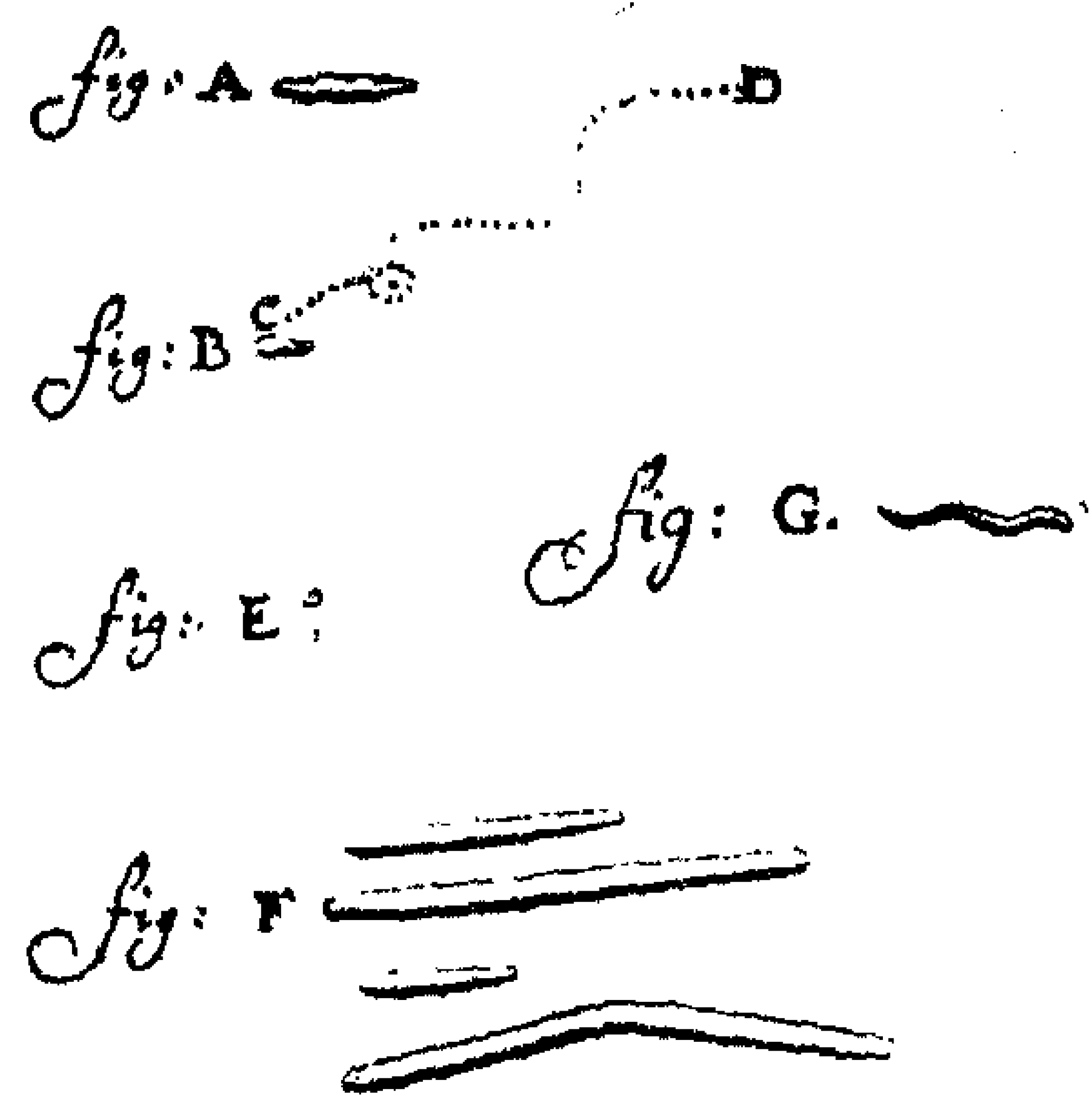
وقد سبق القول أن علم الكائنات الحية الدقيقة لم يكن له وجود قبل إكتشاف العدسات المكبرة . ففى خلال القرن الثالث عشر إقترح روجر باكون Roger Bacon أن الأمراض التى تصيب الإنسان هى نتيجة للإصابة بكائنات حية غير مرئية . وقد أيد هذا الأقتراح كل من فراكستورو Fracastoro (١٤٨٣ — ١٥٥٣) ، ثم فون بلينزس Von Plenciz (١٧٦٢) ولكن كل هذه المقترحات كانت عبارة عن ملاحظات تفتقر إلى الدليل المادى المقنع لعلماء ذلك العصر .

وفى عام ١٦٥٨ أشار كيركر Kircher وهو أحد رجال الدين إلى أن ديدانا صغيرة غير مرئية تتواجد فى الأجسام المتعفنة وفى اللحوم المحفوظة واللبن والإفرازات المخاطية المصاحبة للبراز فى حالات الإسهال . وبالرغم من أن بحوثه كان ينقصها الدقة اللازمة غير أنه يعتبر أول من تعرف على أهمية البكتيريا فى تحليل المواد العضوية وفى إحداث المرض .

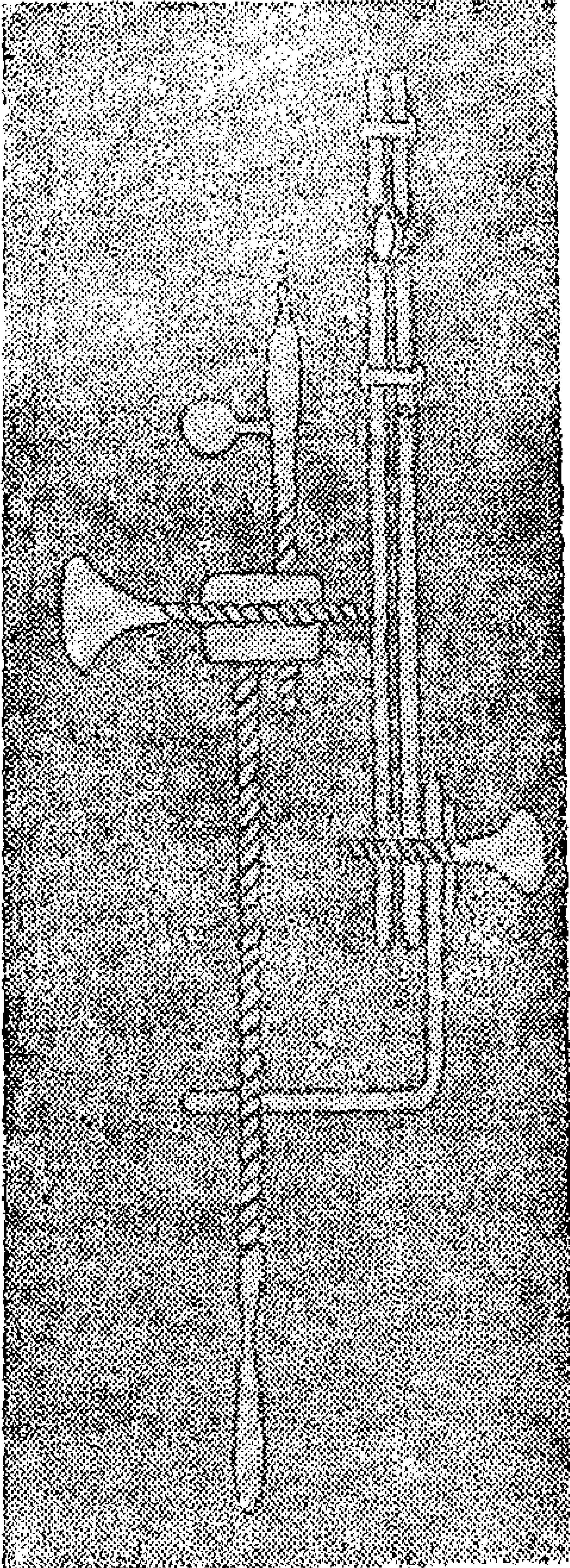
وفى الواقع أن عالم الكائنات الحية الدقيقة لم يظهر للانسان حتى أكتشف الميكروسكوب وذلك عندما تعلم الإنسان صناعة العدسات من قطع الزجاج وتجميعها لتساعد فى تكبير الأشياء الدقيقة والتى لا تشاهد بعين الإنسان المجردة، وقد إكتشفت الميكروسكوبات فى بداية القرن السابع عشر ففتح ذلك المجال لدراسة الكائنات الحية الدقيقة . ويعتبر أنتونى فان لفينهوك Antony van Leeuwenboek الذى عاش فى Delft بهولندا من ١٦٣٢ — ١٧٢٣ أول من قام بوصف ورسم هذه الكائنات بكثير من الدقة وأطلق عليها الحيوانات الصغيرة animalcules (شكل ١)وقد مكنه من هذا سعة ثرائه ومركزه الإجتماعى المميز وشغفه بصناعة العدسات والميكروسكوبات . وفى خلال فترة حياته قام بصناعة ما يقرب من ٢٥٠ ميكروسكوب (شكل ٢) وكان أقصى تكبير حصل عليه ٢٠٠ — ٣٠٠ مرة . وما قام به ليفنهوك من وصف دقيق للكائنات الحية الدقيقة التى لاحظها وشاهدها فى قطرات المياه أو فى قطرات الخل أو فى غيرها من المواد التى فحصها بميكروسكوباته لدليل قاطع على أن ما شاهده كان من البكتيريا والفطريات والبروتوزوا . وقد أرسل رسوما لما شاهده مشفوعة بوصف تفصيلى لكل مجموعة من المجاميع الميكروبية التى شاهدهاإلى الجمعية الملكية بلندن Royal Society of London وهى الهيئة العلمية الأولى التى كانت تعمل فى ذلك الوقت على تقدم البحوث وتبادلها بين العلماء وقد قرئت خطاباته بإهتمام بالغ ولكن أحدا لم يتعرف على مدى أهميتها، فالدراسات فى ذلك الوقت كانت تجرى لإشباع رغبة حب الإستطلاع لدى الباحثين دون التعرض لأهميتها الإقتصادية .

التوالد الذاتى : Spontaneous generation

بعد أن أظهر لفينهوك ان هذه المخلوقات الميكروسكوبية موجودة فى الطبيعة بدأ العلماء فى البحث عن أصل ومنشأ هذه الكائنات ومنذ البداية كانت هناك مدرستان فكريتان فقد إعتقد أعضاء المدرسة الأولى أن هذه الحيوانات الصغيرة تتكون



شكل ١ : أشكال البكتيريا
التى رسمها لفينهوك
(عن Burrows 1973)



شكل ٢ : نموذج لأحد المكروسكوبات التى
صنعها لفينهوك السهم يشير إلى العدسة .

الجسم المفحوص يوضع على قمة السن
المدبب أمام العدسة

(عن Levey et al. 1973)

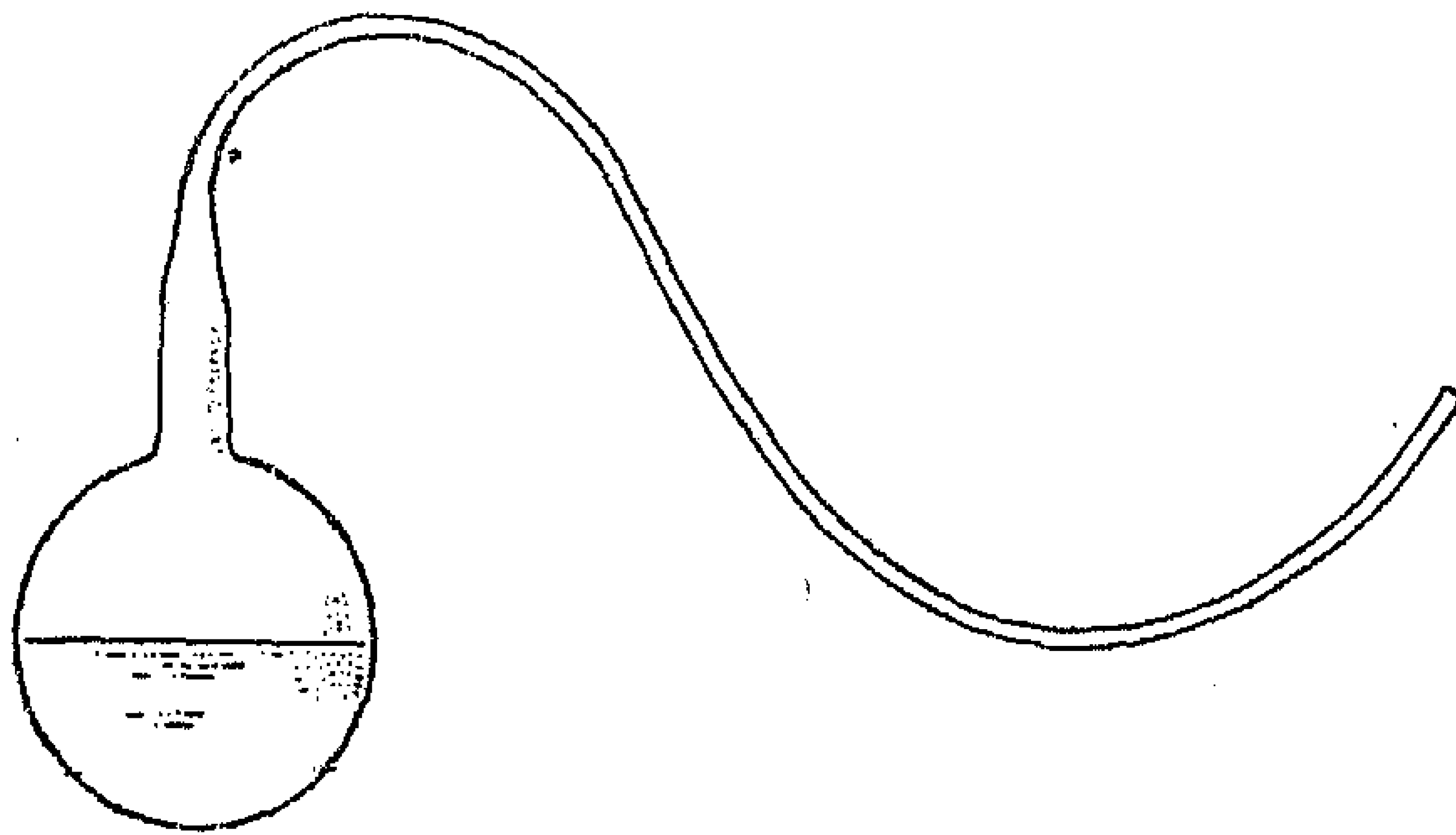
تلقائيا أو ذاتيا من مواد غير حية وهو ما يعرف بنظرية التوالد الذاتى أو التلقائى Spontaneous generation or abiogenesis فى حين المدرسة الثانية ومنها لفينهوك كانت تعتقد بأنها تنشأ من بذور seeds أو germs تكونها هذه الحيوانات الصغيرة والتى تكون دائما موجودة فى الهواء .

ومن مؤيدى المدرسة الأولى جون نيد هام John Needham الذى قرر عام ١٧٤٥ أن مرق اللحم المغلى والموجود بالدوارق التى سدت فوهتها بالفلين حدث بها تعفن وأن هذا المرق الفاسد احتوى على أحياء دقيقة ظهرت عند الفحص الميكروسكوبى وأن هذه الأحياء الدقيقة لم تكن موجودة فى بداية التجربة . وإستنتج أن هذه الكائنات الحية الدقيقة قد نشأت ذاتيا أو تلقائيا من المرق نفسه حيث إنه إعتقد أن الحرارة المرتفعة الغليان قد قتلت جميع الكائنات الحية التى كانت موجودة .

ومن مؤيدى المدرسة الثانية والذى قدم دليلا قويا على أن الكائنات الحية الدقيقة لا تنشأ تلقائيا أو ذاتيا هو العالم الإيطالى لازارو سبلانزانى Lazzaro Spallanzani فقد أجرى عديد من التجارب على هذه المشكلة فى منتصف القرن الثامن عشر (١٧٦٥ و ١٧٧٦) فأظهر أن التسخين يمنع ظهور هذه الحيوانات الصغيرة فى مستخلصات المواد الغذائية مثل المرق وأوضح أن هذه الحيوانات الصغيرة يمكن أن تحمل إلى المرق بالهواء . كما أنه لم يكن مقتنعا بما يقوم به البحاث من قفل الدوارق بالفلين . ولاحظ أن المرق يظل خال من الكائنات الحية الدقيقة لمدة طويلة وذلك بإطالة فترة الغليان ثم لحام عنق الدورق وبذلك فان هذه الحيوانات الصغيرة لن تظهر إلا إذا دخل الهواء مرة أخرى وأصبح ملامس للمرق . إلا أن علماء عصره ومنهم نيدهام Needham أصر على أن وجود الهواء أمر هام لنشأة الكائنات الدقيقة من المرق نفسه ولم يكن ذلك الهواء متاحا عقب لحام الدورق .

ثم ظهر بعد ذلك أن الكائنات الحية الدقيقة لن تظهر فى المرق عندما

يجرى التسخين المناسب حتى ولو عرض بعد ذلك للهواء على أن يعامل الهواء قبل ملامسته للمرق لإزالة الجراثيم الموجودة فى الهواء . ففى عام ١٨٣٦ قام فرانزشولز Franz Schulze بتمرير الهواء خلال المرق المغلى وذلك بعد تمريره خلال محاليل من بوتاسيا كاوية وحامض كبريتيك، وفى عام ١٨٣٧ قام تيودرر شوان Theodor Schwann بتمرير الهواء خلال المرق المغلى بعد تمريره خلال أنابيب ملتوية ومسخنة لدرجة حرارة عالية، ولم تظهر أى كائنات حية دقيقة بالمرق بالرغم من وجود الهواء . لكن المعارضون قالوا أن تمرير الهواء فى الحامض أو خلال أنبوبة مسخنة يفسد الهواء بدرجة تجعله لا يصلح لنشأة الكائنات الحية الدقيقة ذاتيا من المرق . وفى عام ١٨٥٤ قام شرويدر Schroeder و فون دوش Von Dusch بتمرير الهواء خلال أنبوبة طويلة محتوية على قطن بدلا من تسخين الهواء أو إمراره فى الأحماض قبل دخوله إلى المرق المغلى حيث أن القطن يعمل على ترشيح الهواء بحجز محتوياته من الأحياء الدقيقة. ورغم ذلك ظلت نظرية التوالد الذاتى أو التلقائى قائمة وذلك لإعتقاد معتنقيها أن كل الطرق المستعملة فى معاملة الهواء قبل تمريره فى المرق تسلبه القوة الحيوية لنشأة الأحياء الدقيقة من المرق نفسه، إلى أن قام العالم لويس باستير Louis Pasteur (١٨٢٢ — ١٨٩٥) بتجربة فى عام ١٨٦٤ والتى قضت نهائيا على نظرية التوالد الذاتى . ففى هذه التجربة قام باستير بسحب أعناق دوارق تحتوى على مرق مغلى بشكل أنابيب



شكل ٣ : الدورق ذو العنق الطويل الضيق لإثبات خطأ فكرة التوالد الذاتى والذى قام باستير بتصميمه (عن Nester et al. 1978)

طويلة وضيقة تشبه عنق الأوزة (شكل ٣) ، وبذلك كان الهواء يمر خلال العنق دون أى معاملة. ولكن نظرا لطول وضيق والتواء عنق الدورق فإن محتويات الهواء من الكائنات الحية الدقيقة كانت تترسب على السطح الداخلى للعنق أثناء مروره ولا تصل إلى المرق، وبذلك لم تظهر به أى كائنات حية دقيقة. وقضت هذه التجربة البسيطة نهائيا عن تأثير الهواء نفسه كعامل منشط لتكشف الحياة من المواد العضوية مثل المرق وأن الكائنات الحية الدقيقة مثل غيرها من الكائنات الأخرى تنشأ فقط من آباء حية تشبهها تماما .

التخمر : Fermentation

لقد بدأ باستير عمله كأستاذ فى علم الكيمياء فى جامعة ليل Lille فى فرنسا وقام بدراسة التخمرات منذ ١٨٥٧ حتى ١٨٧٦ وذلك لشهرة فرنسا فى صناعة النبيذ والبيرة التى لها أهمية رئيسية فى صادرات فرنسا إلا أن هذه الصناعة كانت تعانى مشاكل عدم الإستقرار وسرعة الفساد فأوكلت الحكومة الفرنسية دراسة هذه المشكله إلى باستير فأظهر أن المشكله تتسبب نتيجة إستبدال لجزء من التخمر الكحولى بنوع آخر من عمليات التخمر والتى تتسبب عن تحويل السكر إلى حمض لاكتيك. وعندما قام بالفحص الميكروسكوبى لمحتويات أحواض التخمير والتى حدث بها تخمر لاكتيكى وجد أن خلايا الخميرة التى تحدث التخمر الكحولى قد حل محلها خلايا عصوية صغيرة وكروية صغيرة. أما فى أحواض التخمير السليمة فكان يوجد طراز واحد من الكائنات الحية الدقيقة (الخميرة) . وعلى ذلك فإنه قرر انه بإنتخاب الميكروب المناسب فإنه يمكن التأكد من إنتاج ثابت متماثل . ولكن نظرا لأن كثيرا من الكائنات الحية الدقيقة تكون موجودة فى عصير الفاكهة والحبوب فيجب أولا إزالتها قبل أن يبدأ التخمر عند إضافة مزرعة من الخميرة الى حوض تخمير يكون سليم ومناسب . وقد إقترح باستير بإنه يمكن إزالة الميكروبات غير المرغوب فيها بالتسخين لدرجة لا تضر نكهة وطعم عصير الفاكهة فوجد أن تسخين العصير إلى درجة ١٤٥ ف (٦٢,٧ م) لمدة

نصف ساعة تؤدى ذلك الغرض . وأطلق على هذه العملية فى التخمرات الصناعية إسم البسترة Pasteurization وهى تتبع أيضا فى صناعة الألبان لتخليص اللبن من الكائنات الممرضة والتى قد تصاحب اللبن .

النظرية الميكروبية

بعد نجاح باستير فى حل مشكلة التخمرات طلبت منه الحكومة الفرنسية دراسة مرض يصيب ديدان الحرير يسمى مرض Pebrine . وبعد سنوات عديدة من الدراسة ومن مجابهة الصعوبات والفشل حدد الطفيل الذى يصيب ديدان الحرير . كما أوضح باستير إنه يمكن التغلب على المرض بإستعمال ديدان سليمة خالية من المرض عند بداية التربية.ثم بدأ بعد ذلك دراسة مرض الجمرة الخبيثة Anthrax الذى يصيب الماشية والأغنام وأحيانا الإنسان وقام بتنمية الميكروب فى دوارق بعد عزله من دم حيوانات ماتت بسبب المرض . إلا أن إكتشاف البكتيريا المسببة لهذا المرض وعزلها فى مزرعة نقية تم على يد الطبيب الألمانى روبرت كوخ Robert Koch (١٨٤٣—١٩١٠) ، الذى قام بدور هام فى دراسة هذا العلم الجديد أعنى علم البكتيريا Bacteriology . ولما لم يكن لكوخ معمل فكان يجرى تجاربه فى منزله مستعملا أدوات بدائية وحيوانات تجارب صغيرة . وأظهر أن الفئران يمكن أن تعدى بلقاح من دم حيوانات مريضة بمرض الجمرة الخبيثة وأمكنه نقل المرض خلال سلسلة من ٢٠ فأرا عن طريق التلقيح المتوالى ولاحظ نفس الأعراض المميزة فى كل مرة . ثم حاول زراعة البكتيريا المسئولة ، وذلك عن طريق خلط قطعة صغيرة من طحال حيوان مصاب بقطرات صغيرة من مصل معقم Sterile serum . وباختبار هذا المصل ميكروسكوبيا كل ساعة شاهد نمو الكائن البكتيرى فى هذه البيئة على صورة عصويات متصلة فى خيوط طويلة ثم ظهر بها بعد مدة أجسام لامعة بيضية الشكل اتضح له فيما بعد بأنها جراثيم Spores وهذه لم تلاحظ من قبل .

وعندما نقل جزء من بيئة بها الجراثيم المذكورة الى نقطة من بيئة معقمة وجد أن الجراثيم تنبت وتعطى خلايا عصوية مرة أخرى. وقام كوخ بوضع فروضه لاثبات أن البكتيريا يمكن أن تسبب مرض للحيوان وذلك فى عام ١٨٧٦ . هذه السلسلة من الفروض كانت فى الواقع تطبيق للشروط التى اقترحها Henle قبل ذلك بمدة ٣٦ سنة أى فى عام ١٨٤٠ عن الخطوات المنطقية لاثبات العلاقة بين أى كائن دقيق وبين مرض ما وتتلخص فى الآتى :

١ — يجب أن يكون الكائن الحى الدقيق دائما مصاحبا In association فى كل حالة للمرض المعين أو لعرض مرضى Symptom معين .

٢ — يجب أن يعزل الكائن الحى الدقيق من العائل المريض وينمى فى مزرعة نقية Isolation in pure culture .

٣ — أن هذا المرض المعين يجب أن ينتج مرة أخرى عندما تلقح Incoculate العائل السليم القابل للاصابة بمزرعة نقية من الكائن .

٤ — يجب اعادة عزل نفس الكائن الحى الدقيق مرة أخرى من العائل المعدى تجريبيا .

وحيث أن كوخ كان أول من طبق هذه الفروض تجريبيا لذلك فانها تعرف باسم فروض كوخ Koch's postulates .

عزل البكتيريا فى مزارع نقية

المزرعة النقية pure culture هى التى تشتمل على نوع واحد من الكائنات الحية الدقيقة ويفضل البعض اصطلاح Axenic culture عن اصطلاح Pure culture حيث أن المقصود بـ Axenic culture أنها المزرعة التى ينمو فيها نوع وحيد Single species من كائن حى دقيق فى بيئة خالية من أى كائنات حية أخرى بصرف النظر عن النقاء

الوراثى للنوع . فى حين أن اصطلاح Pure culture يفترض النقاء الوراثى للمزرعة ـ أى أن بالمزرعة سلالة وحيدة معينة نقية وراثيا Single strain من نوع معين Single species .

أول من حصل على مزرعة نقية كان جوزيف ليستر Joseph Lister عام ١٨٧٨ وذلك عن طريق سلسلة من التخفيفات فى بيئة سائلة . فقام باستعمال حقنة خاصة استعملها فى تخفيف لبن يحتوى على مخلوط من البكتيريا الى أن حصل على كائن مفرد فى وعاء به لبن معقم وبعد التحضين Incubation كانت البكتيريا فى هذا الوعاء من طراز مفرد وسمى ليستر الكائن المعزول بهذه الطريقة *Bacterium lactis* .

وفى نفس الوقت كان كوخ يحسن من طرق دراسة البكتيريا ، فقام باستعمال الجيلاتين وغيرها من المواد التصلبية الى البيئات السائلة لتصليبها وذلك للحصول على نموات منعزلة من الكائنات تعرف بالمستعمرات Colonies كل منها يحتوى على ملايين من البكتيريا لنوع بكتيرى منفرد . ومن هذه المستعمرات يمكن نقل مزارع نقية الى بيئات أخرى . ويعتبر اكتشاف بيئـة الزرع الصلبـة من أعظـم اكتشافات كوخ . كما أنه أوجد طريقة البيئات الصلبة فى أطباق لتنقية المزارع البكتيرية وفى سنة ١٨٨٤ عزل كوخ ميكروب السل فى مزارع نقية عن هذا الطريق . ونظرا لعيوب الجيلاتين فقد أدخلت Frau Hesse (١٨٨٣) وهى زوجة لأحد طلاب كوخ استعمال الآجار عند عمل البيئات الصلبة والذى كان له مميزات أكثر من الجيلاتين عند استعماله فى هذا المجال . هذا وقد استمر كوخ فى تحسين طرق دراسة البكتريا فكان أول من جهز الأغشية البكتيرية على الشرائح الزجاجية وقام بصبغها بأصباغ مختلفة توطئة للفحص الميكروسكوبى .

التحصين Immunization كوسيلة للوقاية من الامراض المعدية

و اصل باستير اكتشافاته بخصوص الوقاية من الأمراض المعدية . ففى

عام ١٨٨٠ قام بعزل الميكروب المسئول عن كوليرا الدواجن Chicken cholera المتسبب عن *Pasteurella multocida* ونماه فى مزرعة نقية وقام باستعماله فى تلقيح دجاج سليم فأحدثت أعراض المرض ، ولكن عند استعماله لأحد المزارع النقية فى تلقيح دجاج سليم لاحظ أن الدجاج لم يمرض. وبمراجعة خطوات التجربة لاحظ باستير أن المزرعة التى استعملها فى العدوى كانت مزرعة قديمة عمرها عدة أسابيع . وبعد عدة أسابيع أخرى قام بتكرار العدوى باستعمال مجموعتين من الدواجن ، مجموعة كانت ملقحة مسبقا بالمزارع القديمة التى ثبت أنها غير فعالة ، والمجموعة الأخرى سليمة لم يسبق تلقيحها . وكلا المجموعتين لقحتا بمزرعة حديثة من الميكروب ، وبعد فترة الحضانة الكافية لاحظ أن دجاج المجموعة الثانية مرض ومات ولكن أفراد المجموعة الأولى ظلت حية وسليمة . وقد حير ذلك الأمر باستير ، إلا أنه وجد فيما بعد التفسير المنطقى السليم فأمكنه التيقن من أن البكتيريا تفقد قدرتها على إحداث المرض — أى تفقد قدرتها المرضية Virulence إذا ماتقدمت مزارعها فى السن ، ولكن هذه البكتيريا المضعفة Attenuated bacteria مازالت قادرة على أن تدفع أو تنشط جسم العائل لينتج الأجسام المضادة المتخصصة Specific antibodies التى تقى الدجاج عندما يتعرض إلى البكتيريا الممرضة أو ذات القدرة المرضية Virulent . وهذا يمكنه أن يفسر أيضاً ما سبق أن لاحظه جينر Jenner قبل ذلك بمائة عام تقريباً (١٧٩٨) ، عندما قام باستعمال فيروس جدرى البقر Cowpox فى تحصين الإنسان ضد مرض الجدرى Smallpox . وبالمثل قام باستير بعد ذلك بوقاية الأبقار من الاصابة بالجمرة الخبيثة وأطلق على المزرعة المضعفة المستعملة اسم Vaccine وهو اسم مشتق من الاسم اللاتينى Vacca أى بقرة والتى أشتق منها اسم Vaccination للدلالة على التحصين باستعمال المزارع المضعفة من البكتيريا لاكساب المناعة للحيوانات التى لا علاقة لها بالأبقار .

وقد ذاع صيت باستير وهو الكيماوى الذى قام بحل مشكلة النبيذ بفرنسا وقام بدراسة أمراض الماشية والدواجن ، ألا أن طلب منه دراسة بعض أمراض الإنسان وكان فى ذلك مخاطرة كبيرة لأنه لم يكن طبيباً ولكنه قبل التحدى عندما قام بتحضير طعم واقى من مرض الكلب Hydrophobia or rabies . وهو مرض ينتقل إلى الإنسان عن طريق عض الكلاب والقطط وغيرها من الحيوانات . فقد ووجه بهذا التحدى عندما أصيب طفل يسمى جوزيف ميستر Joseph Meister بعضة ذئب مصاب بمرض الكلب ولم تتردد عائلته من انتهاز فرصة ضئيلة للغاية بإن يقوم باستير بعمل تطعيم للطفل بالطعم الذى يحضره باستير . وقد كان من المعروف أن مسبب المرض كائن صغير جداً لا يشاهد بالميكروسكوب الضوئى (فيروس) ولم ينموقط فى المعمل فى مزرعة صناعية . وكان من المعروف أنه يمكن إحداث المرض فى الأرانب عن طريق عدواها بلعاب كلب مصاب ثم تحضير الطعم الواقى من مخ ونخاع الأرنب المصاب بعد تجفيفه لعدة أيام ثم صحنه وخلطه بالجلسرين وحقن هذا المخلوط فى الحيوانات السليمة لو قايتها من مرض الكلب . ولكن تحصين الكلاب أو الحيوانات الأخرى أمر مختلف جداً عن معاملة طفل مصاب ، ولكن باستير قام بحقن الطفل بنفس الطعم فنجى الطفل ولم يمت . ومن المعروف أن أساس علاج مرض الكلب وكذلك الجدرى لم يتغير حتى الآن.

الجراحة المعقمة

لقد كان تلوث الجروح عقب العمليات الجراحية من الأمور الخطيرة والمحددة للجراحة والمسببة لموت كثير من المرضى خلال القرن التاسع عشر . ألا أنه فى عام ١٨٦٠ قام الجراح الانجليزى جوزيف ليستر Joseph Lister بايجاد طريقة لابعاد البكتيريا عن الجروح وعن جروح العمليات الجراحية باستعمال المطهرات الكيماوية Disinfectants . ومنذ أن عرف أن حمض الكربوليك له تأثير فى قتل البكتيريا فقد استعملت محاليلا مخففة منه لغسيل أيدى الجراحين

ولتشبيع أغطية الجروح والضمادات وتطهير جلد المريض قبل الجراحة وبعدها الأمر الذى أدى إلى الاقلال من ثلوث الجروح وتقدم الجراحة بالطرق غير الملوثة Aseptic techniques .

اضافات أخرى

لقد كرم كل من باستير وكوخ فى أوطانهم فقد أصبح كوخ أستاذ للصحة ومدير لمعهد الأمراض المعدية الذى أسس له خصيصاً فى جامعة برلين، وحصل على جائزة نوبل فى سنة ١٩٠٥، وقامت فرنسا بانشاء معهد باستير فى باريس فى سنة ١٨٨٨. وقد جاء لكوخ ولباستير طلاب من جميع أنحاء العالم ليتعلموا منهما ويدرسوا على أيديهما وليعودوا إلى أوطانهم فى أمريكا وأوربا. ثم توالى بعد ذلك اكتشافات كثيرة فى علم البكتيريا بمجالاته المختلفة مثل ميكروبيولوجيا التربة، ففى سنة ١٨٨٨ قام بايجيرنيك Beijerinck بعزل البكتيريا المكونة للعقد الجذرية *Rhizobium* من جذور النباتات البقولية فى مزارع نقية، وتمكن العالم الروسى وينوجرادسكى Winogradsky (١٨٩٠—١٩٦١) من إظهار أن بكتيريا التأزت بكتيريا ذاتية التغذية، وفى سنة ١٨٩٥ تمكن أيضاً وينوجرادسكى من عزل كائنات غير هوائية تثبت الأزوت الجوى وتعيش معيشة حرة فى التربة *Clostridium pasteurianum*، وفى ١٩٠١ قام بايجيرنيك Beijerinck بعزل ووصف البكتيريا *Azotobacter* التى تثبت الأزوت الجوى .

وفى مجال أمراض النبات تمكن العالم الأمريكى بيوريل Burrill (١٨٧٨) وهو أحد طلبة باستير — من أن يتعرف على أن المسبب الحقيقى لمرض اللفحة النارية فى الكمثرى ماهو إلا بكتيريا وتعرف هذه البكتيريا الآن باسم *Erwinia amylovora* .

وفى نهاية القرن التاسع عشر وأوائل القرن الحالى قام إيميل هانسن

Emil C. Hansen بفتح الطريق إلى دراسة صناعة التخمرات فهوأول من نادى باستعمال المزارع النقية من الخميرة والبكتيريا فى صناعة الخل ثم بدأت المزارع النقية التى تعرف بالبادئات starters فى التداول فى الصناعات التخمرية وغيرها . فمثلا إستعمل أدامتس Adametz (١٨٨٩) الاسترالى مزارع نقية (بادئات) فى صناعةالجبن كماإستعمل كون H.W. Cohn مزارع نقية من الكائنات الدقيقة فى صناعة الزبد .

ومن الدراسات المبكرة للأمراض المعدية ظهر أن هناك أمراضاً تتسبب عن عوامل ممرضة لا تشاهد بالميكروسكوب الضوئى وقابلة للترشيح فى المرشحات البكتيرية ولا تزرع فى بيئات الزرع وقد تمكن إيفانوفسكى Ivanowsky فى ١٨٩٢ من إكتشاف الفيروسات القابلة للترشيح والتى تسبب تبرقش الدخان (Tobacco mosaic disease) ووصف فروش ولوفر Frosch, and Loffler فى ١٨٩٧ عامل مرضى مشابه ويسبب مرض الحمى القلاعية فى الماشية ووصف Twort فى ١٩١٦ و d'Herelle فى ١٩١٧ عوامل مماثلة تصيب وتسبب وتحلل البكتيريا . وتعرف هذه العوامل التى تصيب النبات والحيوان والبكتيريا بالفيروسات النباتية والحيوانية والبكتيرية أو البكتيريوفاج على التوالى .

وفى مجال المضادات الحيوية لاحظ الكسندر فلمنج Alexander Fleming فى ١٩٢٩ نشاط البنسلين فى تثبيط نمو البكتيريا وذكر فلمنج أن هذا المركب قد يكون له أهمية فى علاج الأمراض . واستخدم فعلا بعد ذلك إبتداء من ١٩٤٠ فى مجال العلاج الكيماوى ثم توالى بعد ذلك إكتشاف العديد من المضادات الحيوية الأخرى.

وفى مجال وراثة البكتيريا إكتشف جريفث Griffith فى ١٩٢٨ أنه يمكن لسلالة معينة من البكتيريا أن تكتسب صفة من سلالة أخرى قريبة منها وتعرف هذه الظاهرة بالتحول الوراثى Transformation وقد تمكن

أفرى وماك لويد وماك كارتى Avery, MacLeod and McCarty فى عام ١٩٤٤ من إثبات أن الـــDNA هو العامل الذى يسبب هذا التغيير الوراثى . وفى ١٩٤٧ تمكن تاتم ولدربرج Tatum and Lederberg من الحصول على نتائج حاسمة تدل على وجود ظاهرة إعادة تشكيل الصفات الوراثية Recombination فى البكتيريا مما يؤكد حدوث التكاثر الجنسى فى البكتيريا .

من الملاحظ أنه خلال القرن الحالى لم يمر عام إلاوفى طياته إضافات جديدة وهامة لعلم البكتيريا . والمجال هنا لا يتسع لسرد كل هذه الاكتشافات الهامة إلى يومنا هذا إلا أنه قد يشار إلى بعضها فيما يلى من صفحات هذا الكتاب كل فى موضعه المناسب .

المراجـــع

Bulloc, K. W. 1938. The History of Bacteriology. Oxford University Press, London.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbilogy. Twentieth Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia 1035 p.

Gale, E.F. 1948. Chemical activities of Bacteria. London University Tutorial Press; New York Accademic Press.

Levy, J., J.J.R. Campbel, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York . 684 p.

Masters, D. 1946. Miracle Drug. The inner history of Penicillin Egre & Spotswood, Ltd. London.

Nester, E.W. C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Second Edition. Holt, Rinehart and Winston. New York 769 p.

Porter, J. R. 1946. Bacterial Chemistry and Physiology. John Wiley and Sons. New York,

Stephenson, M. 1949. Bacterial Metabolism. 3rd Ed. Longmans, Green and Co. London.

Thimann, K.V. 1961. The Life of bacteraia. 3rd Printing. The Mac Millan Book Co. Geneve, New York.

Vallery-Radort R. 1926. The life of Pasteur. translated by R.L. Devonshiri, Garden city-Books. New York.

الباب الثانى

الخلية البكتيرية

الصفات المظهرية والتركيب الداخلى

لقد وصف العالم كون Cohn (١٨٧٢) البكتيريا بأنهـا مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة تفتقر إلى الكلوروفيل وتتكاثر خلاياها المستديرة أو البيضية أو العصوية (مستقيمة أو منحنية) عن طريق الانفلاق العرضى وتتواجد إما منفردة أو متجمعة فى مستعمرات .

ولا زالت أوصاف كون للشكل المظهرى للبكتيريا معترف بها إلى يومنا هذا فيما عدا وصفه لها بأنها خالية من الكلوروفيل حيث تبين فيما بعد أن بعض البكتيريات تحتوى على هذه الصبغة الخضراء .

وتتلخص دراسة الشكل المظهرى فى التحقق من شكل وحجم وطريقة تجمع الخلايا عقب عملية الانقسام , وكذلك التأكد من وجـود اعضاء الحركة (الأسواط flagella) وكيفية توزيعها على الخلية , وتتم هذه الدراسات بالفحص المجهرى لتحضيرات من الخلايا مصبوغة بمختلف الطرق سواء البسيطة منها أو المركبة ، أو فى تحضيرات غير مصبوغة عند استعمال مجهر الأطوار المتباينة أو المجهر الالكترونى . هذا وقد يسهل على الباحث المدرب إجراء مثل هذه الدراسات المظهرية للخلايا البكتيرية إذا ما أجريت عمليات الصبغ او التحضير بالدقة المطلوبة .

وفيما يختص بدراسة البناء الداخلى للخلية البكتيرية فيعتبر أكثر صعوبة من الدراسات المظهرية . ويرجع ذلك إلى الدقة المتناهية فى حجم ووزن الخلية . فالخلية البكتيرية الواحدة يصل حجمها إلى $^{-14}$٦ سم^3 وتزن

ما يقرب من $\frac{١}{١٠٠،٠٠٠}$ من الميكروجرام (الميكروجرام $\frac{١}{١٠٠٠}$ من المللى جرام) فكيف إذن يمكن للباحث التعرف على الأجزاء المختلفة بداخل مثل هذه الخلية المتناهية فى الصغر ؟

والميكروسكوب الضوئى كما سبق أن بينا لا يمكنه أن يميز تركيبا مايقل قطره عن ٠,١٥ ميكرون أو بمعنى آخر لا يمكنه أن يميز تركيبا يقل حجمه عن $\frac{١}{١٠٠٠}$ من الحقل الميكروسكوبى أو $\frac{١}{١٠}$ من عرض الخلية البكتيرية نفسها كما أنه لا يمكن من الصور الالكترو ميكروسكوبية تحديد طبيعة الأجسام أو التركيبات التى تشاهد داخل الخلايا البكتيرية على وجه الدقة ، لهذا فإن الدراسات الخاصة بالتنظيم الخلوى أو بمعنى آخر البناء الداخلى للخليـة البكتيرية تتم بالطرق التشريحية الكيماوية Chemical dissection أو بالطرق السيتوكيمائية Cytochemical والتى تتطلب الحصول على تجزءات مختلفة different fractions من الخلية ودراسة التركيب الكيماوى والوظيفـة الرئيسية لكل منها .

الفصل الأول

الصفات المورفولوجية

Cellular Morphology

إن الدراسات المظهرية للخلية البكتيرية تتضمن معرفة حجمهـا Size وشكلها Shape وطريقـة التجمع والترتيب Arrangement والحركة . وبالرغم من صغر حجم الخلية البكتيرية ، الا أنه يمكن قياسه بالدقة الكافية وتبعاً لنوع البكتيريا فإن الخلايا الفردية منها اما أن تكون مستديرة أوعصوية أو منحنية قليلا أو كثيراً أو محتوية على عدة انحناءات لتظهر بشكل حلزونى أو بريمى . وعلاوة على ذلك فإن خلايا بعض الأنواع البكتيرية تنظم نفسها فى تجمعات مختلفة منها التجمعات المزدوجة أو العنقودية أو السبحية . ويتحتم على الدارس معرفة هذه التجمعات لأهميتها فى الأغراض التصنيفية .

حجم الخلايا البكتيرية

معظم خلايا البكتيريا العصوية ذات أبعاد ٢ — ٥ × ٥ر— ١ μ m ميكروميتر (μ m = $\frac{١}{١٠٠٠}$مم) والخلايا الكروية منها مثل خلايا أنواع *Staphylococci* أو *Streptococci* يتراوح قطرها بين ٧٥ و الى ١,٢٥ μ m وهناك بعض البكتيريات التى تتميز خلاياها بتكون خيوط طويلة تصل الى ١٠٠ μ m أو أكثر .

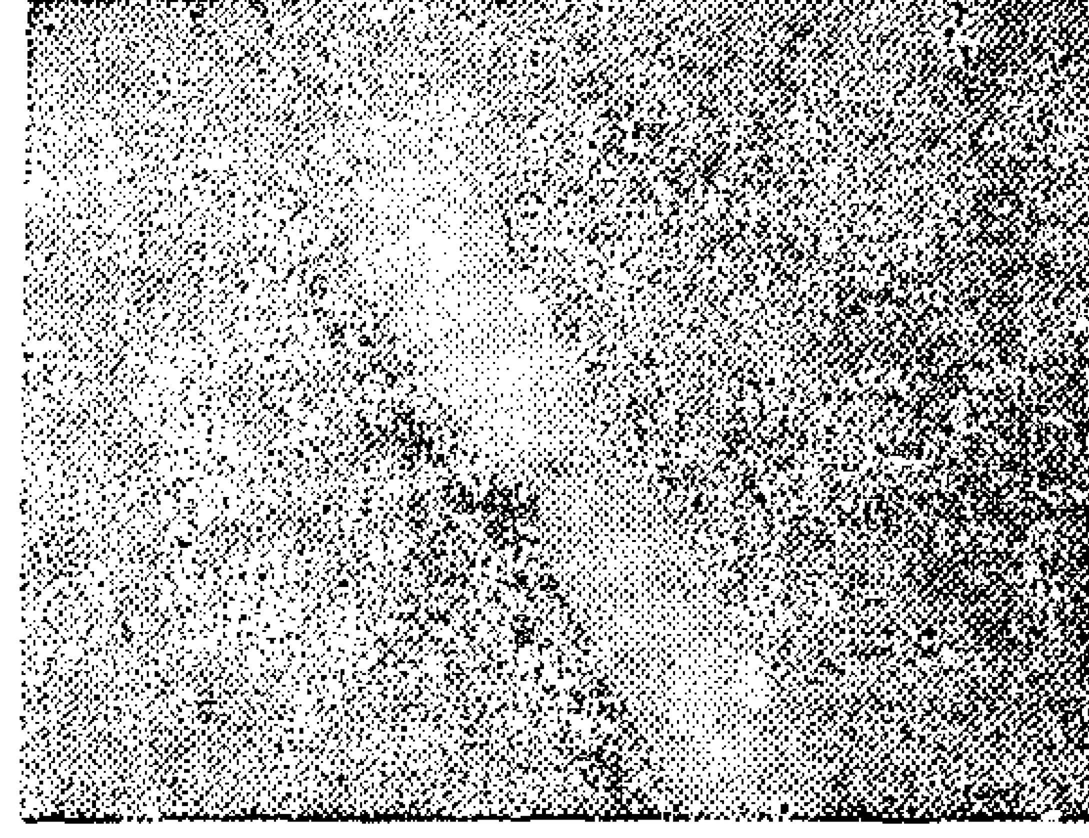
ولتوضيح مدى صغر حجم البكتيريا فان فراغ حجمه ١ بوصةمكعبة يمكنه ان يحوى ٩ تريليون triljion من الخلايا العصوية متوسطة الحجم وأن جرام واحد من هذه الخلايا يحتوى تقريبا على تريليون من الخلايا البكتيرية . وعادة تفحص الخلايا ميكروسكوبيا بعد تكبيرها عدة مرات

تصل الى ١٠٠٠ مرة حتى يمكن تميزها . ولصغر حجم الخلية البكتيرية أهمية للخلية نفسها فان نسبة السطح الى الحجم surface ara / volume فى البكتيريا يعتبر كبير جداً اذا ما قورن بنفس النسبة فى الكائنات الأخرى ففى حالة الكرويات الصغيرة فان نسبة السطح الى الحجم تكون ١٢٠,٠٠٠ وفى حالة الاميبا اذا ما اعتبر ناها تجاوزا كاملة الاستدارة وذات قطر ١٥٠ μ m فان النسبة المذكورة تصل الى ٤٠٠ ، ونفس النسبة فى حالة بيض الدجاج تصل ١,٥ , وفى الانسان الذى يزن ٢٠٠ رطل تكون النسبة ٠,٣ وحيث أن السطح الخلوى للبكتيريا يعتبر مسرحا لمعظم التفاعلات الأيضية على اختلافها فان الزيادة الكبيرة فى نسبة سطح الخلية البكتيرية الى حجمها يفسر لنا مدى النشاط الكبير الملحوظ فى تفاعلاتها الأيضية . ويؤيد ذلك قدرة البكتيريات المخمرة لسكر اللاكتوز على هدم كمية كبيرة جداً من هذا السكر تتراوح بين ألف إلى عشرة آلاف مرة قدر وزنها فى خلال ساعة واحدة من الزمن . وإذا قدرنا الوقت الذى يكفى لكى يستهلك انسان متوسط الوزن كمية من السكر تقدر بألف مرة قدر وزنه لاحتاج الى فترة تصل الى ٢٥٠,٠٠٠ ساعة أو بمعنى آخر لاحتاج الى مدة تزيد عن متوسط حياته .

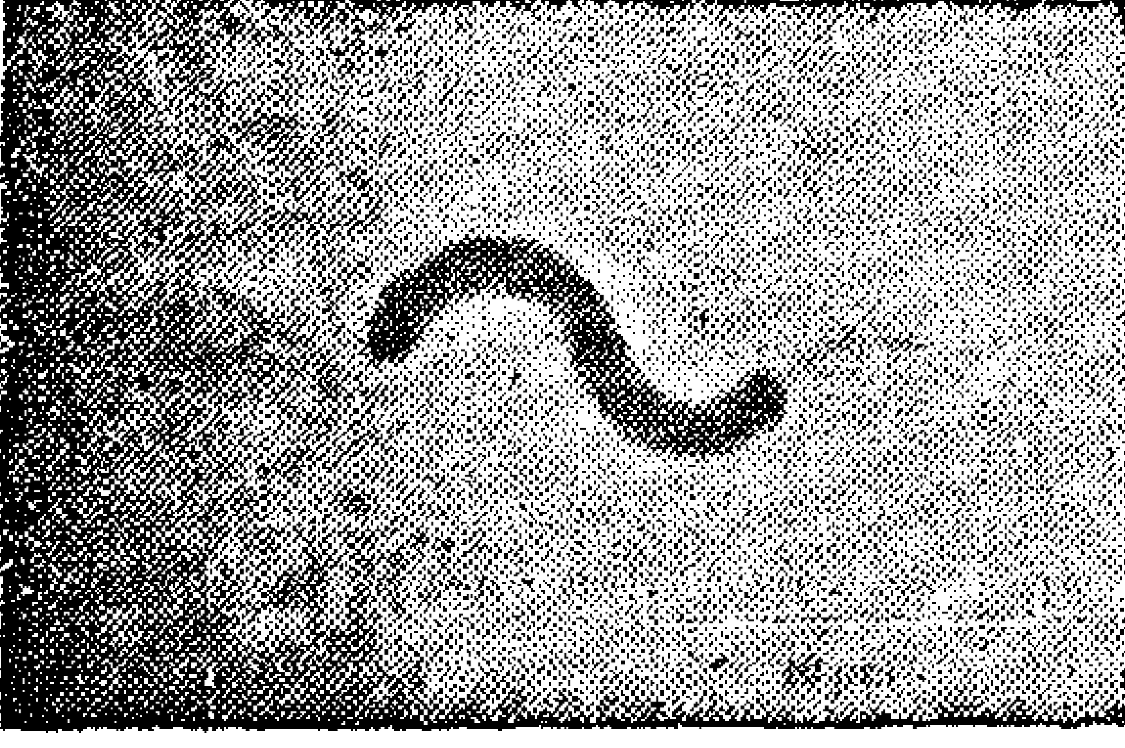
شكل وتجمع أو ترتيب الخلايا البكتيرية

Shape and arrangement of bacterial cells.

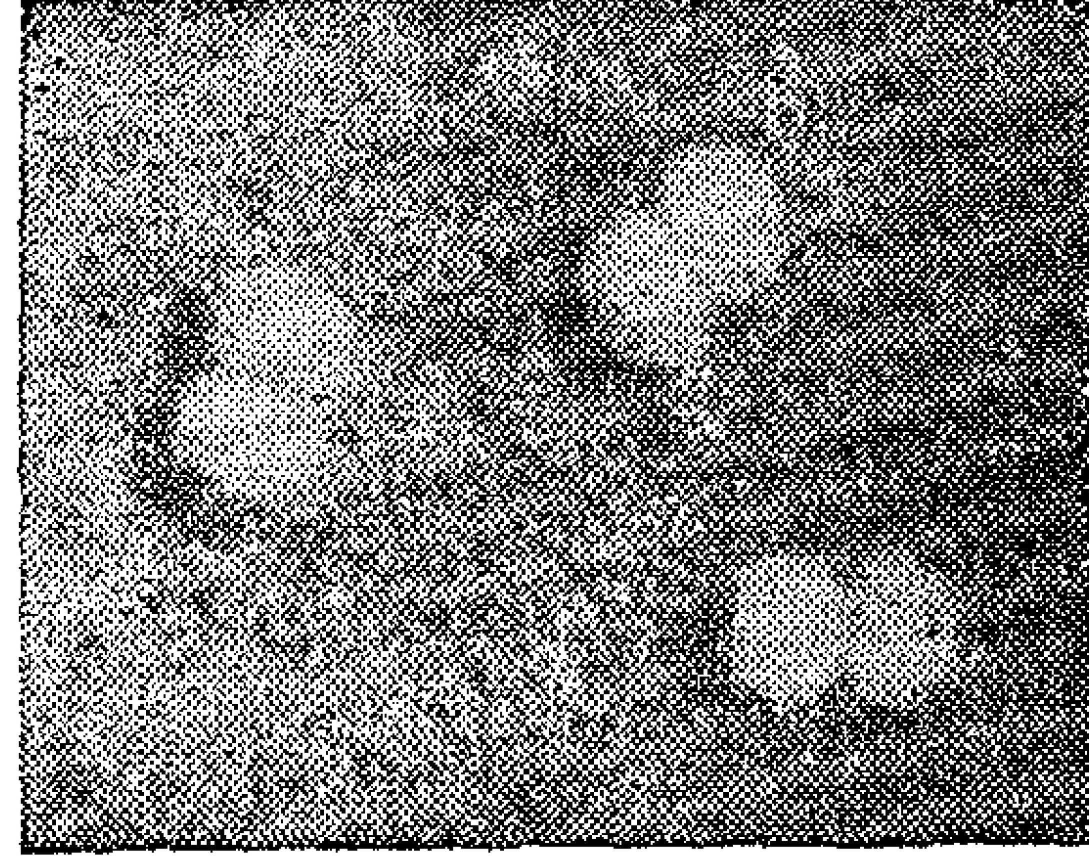
بالرغم من وجود عدد كبير من الأنواع المختلفة من البكتيريا فإن الخلية الفردية من البكتيريات الحقيقية تكون إما كروية Spherical أو تتخذ شكل العصا المستقيمة أو الاسطوانة Cylindrical or rod like أو تكون حلزونية helicoidal or spiral (شكل ٤) .



بكتيريا عصوية
Clostridium perfringes



بكتيريا حلزونية



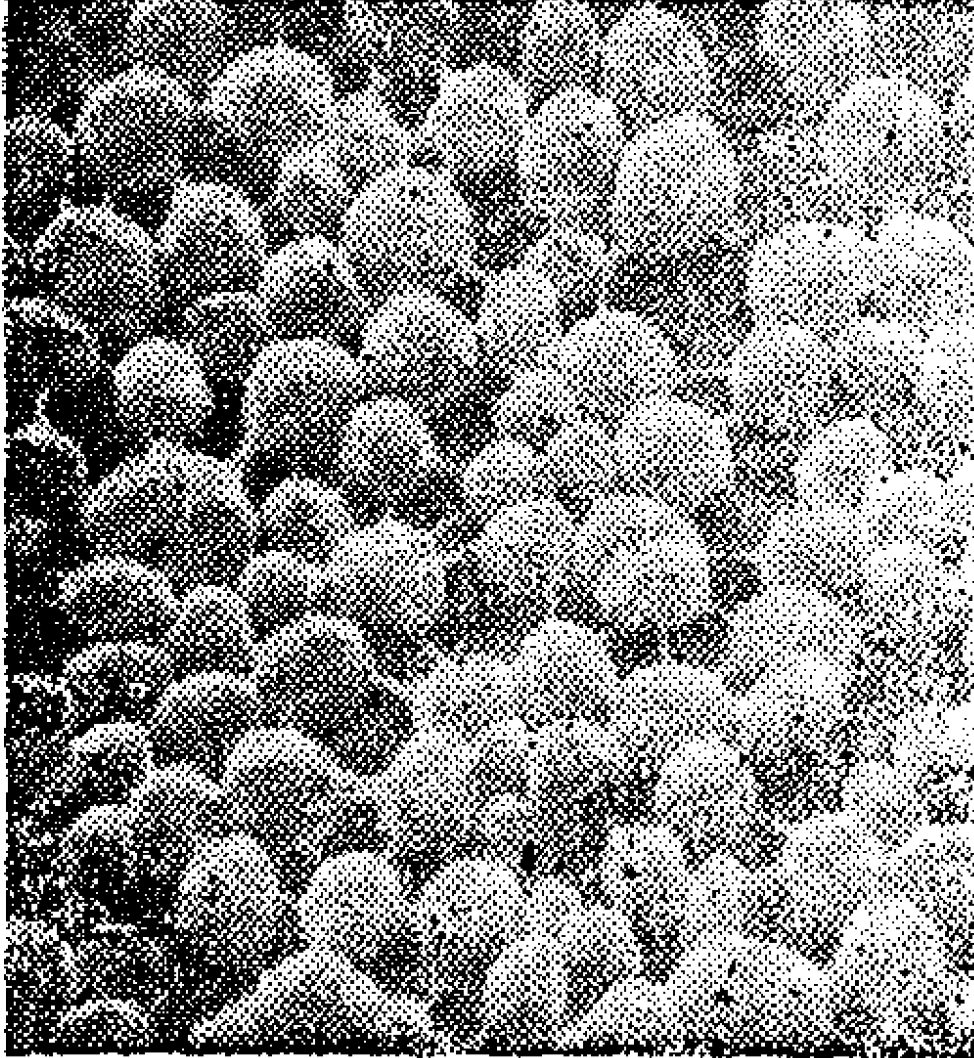
بكتيريا كروية فى ازواج
Neisseria gonorrhoeae



بكتيريا كروية فى سلاسل
Streptococcus sp.



بكتيريا كروية فى تجمع رباعى



بكتيريا كروية فى عناقيد
Staphylococcus sp.

شكل ٤ : الأشكال الشائعة للبكتيريا . صور إلكترومیكروسكوبية للشكل الكروى بتجمعاته المختلفة والشكل العصوى أما الشكل الحلزونى فهو مصور من مجهر الأطوار المتباينة

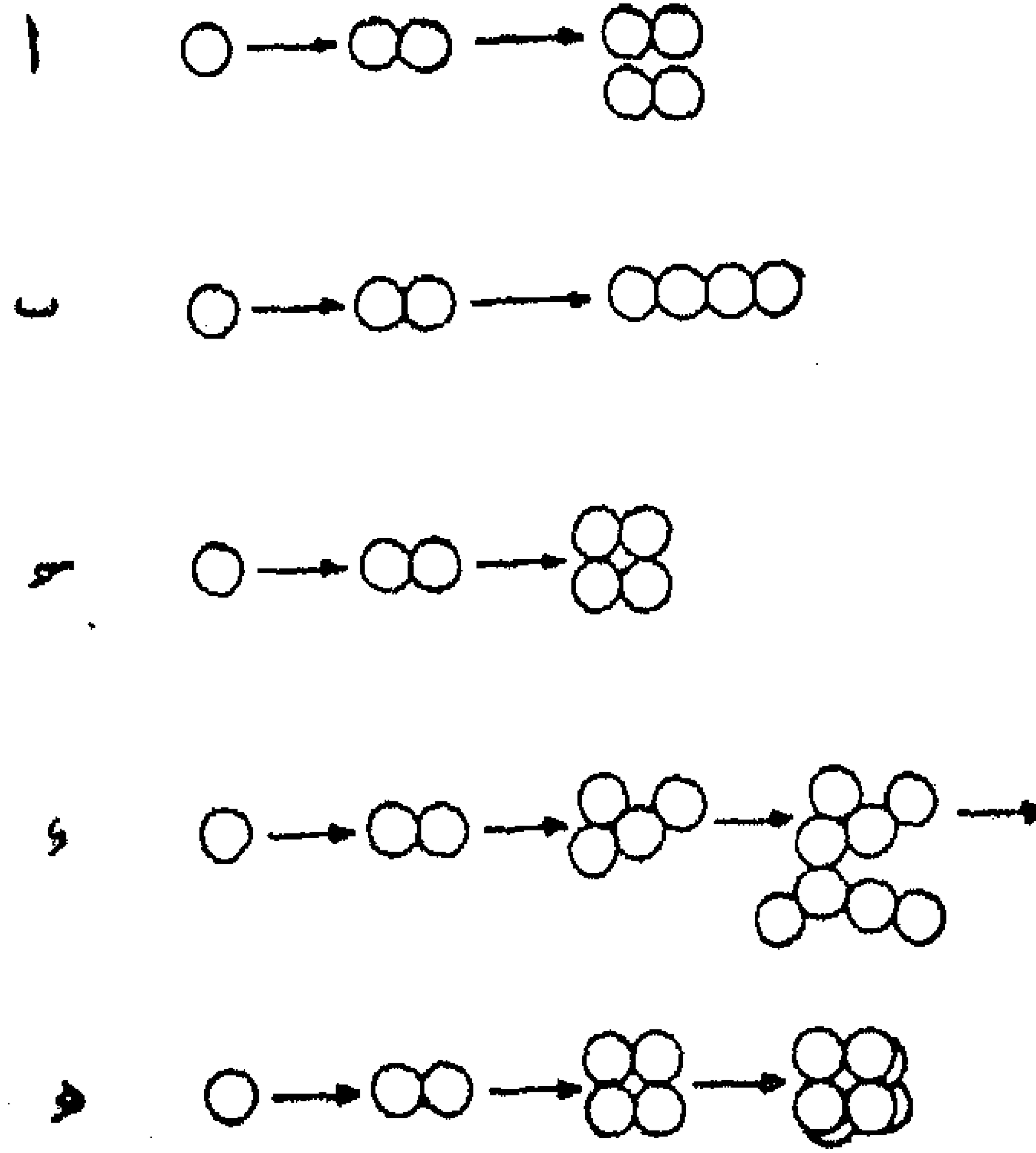
(عن Nester et al. 1973, Hugo 1972)

١ — البكتيريا المستديرة Spheres

يطلق على الخلايا الكروية اسم *cocci* ومفردها *coccus* وكثير من هذه البكتيريا لهـا نظم تجمع (شكل ٥) لها أهميتها فى أغراض التعريف . فمنها ما يوجد فى أزواج *Diplococcus* أو فى سلسلة (سبحيـة) *Streptococcus* أو فى مجاميع رباعية مسطحة Tetrads أو عناقيد غير منتظمة تشبه عنقود العنب *Staphylococcus* أو فى تركيب ذو ثلاثة أبعاد (مكعبات مكونة من ٨ خلايا أو أكثر) *Sarcina* وهذا التجمع للبكتيريا الكروية يمكن تفسيره نتيجة لارتباط الخلايا الناتجة عقب التكاثر عن طريق الانفلاق الثنائى binary fission حيث أن الخلية المفردة تنقسم لتكون خليتين جديدتين فى مستوى واحد أو اتجاه واحد ، والخليتان الجديدتان تبقى كل منها متصلة بالأخرى . وبعـد فترة أخرى من الوقت يتكرر الانقسام وتتكون ٤ خلايا أى زوجين من الخلايا ينفصل كل زوج منهما عن الآخر وبذلك تتجمع الكرويات فى أزواج ويعرف نظام التجمع باسم Diplococcus . وتعتبر البكتيريا Pneumococci المسببة للالتهاب الرئوى مثالا لهذا النوع من التجمع .

و اذا حدث التكاثر فى مستوى واحد مثل السابق ولكن ظلت الخلايا الناتجة عن عديد من الانقسامات المتتالية متصلة ببعضها فإن التركيب الناتج سوف يتخذ شكل السلسلة أو السبحة ويعرف باسم *Streptococcus* الذى يميز أفراد جنس *Streptococcus* ، وتعتبر البكتيريا المسببة لحموضة اللبن *Streptococcus lactis* والبكتيريا المرضة *S. pyogenes* من الأمثلة الواضحة لهذا النوع من التجمع .

أما الخلايا الكروية التى تنقسم بالتتابع فى مستويين أو اتجاهين مختلفين متعامدين على بعضهما ، تكون مجاميع رباعية مسطحة Tetrads ويتميز أفراد جنس *Pediococcus* بهذا النوع من التجمع .



شكل ٥ : كيفية حدوث التجمعات الخلوية المختلفة للبكتيريا الكروية أثناء الإنقسامات الخلوية .

(أ) التجمع فى أزواج *Diplococsus* (ب) تجمع فى شكل سلسلة *Streptococcus*
(ﺣ) مجموعة رباعية مسطحة Tetrad (د) عناقيد غير منتظمة *Staphylococcus*
(ﻫ) مكعب من الخلايا Sarcinae .

وتوجد أنواع أخرى تنقسم فى ثلاثة مستويات ولكن بدون نظام معين ينتج عنها عناقيد غير منتظمة *Staphylococcus* وتعتبر أنواع جنس *Staphylococcus* ومنها *S. aureus* من الأمثلة الواضحة لهذا النوع من التجمع .

بعض الكرويات تنقسم فى ثلاثة مستويات أو اتجاهات متعامدة على بعضها لتكون مكعبات Sarcinae من الخلايا تتكون كل منها من ثمانى خلايا أو مضاعفاتهـــا ، وتشمل هذه المجموعة عدداً من البكتيريا المترممة والتى تحمل فى الهواء مثل البكتيريا التابعة للجنس *Sarcina* .

مما تقدم يتضح أن كل من نماذج تجمعات الخلايا الكروية تعتبر صفة مميزة لجنس من أجناس البكتيريا الكروية يمكن اعتباره صفة هـامة من صفات التصنيف والتقسيم، لذلك كان من الواجب عند وصف الشكل الظاهرى للخلايا الكروية الإشارة إلى طريقة تجمع الخلايا . ومن الملاحظ أنه نادرا ما تكون كل الخلايا فى نوع معين مرتبة فى نظام نموذجى ولكن الترتيب أو التجمع السائد هو الصفة الأساسية .

٢ — البكتيريا العصوية المستقيمة

الخلايا البكتيرية التى تشبه العصا rod like يطلق عليها *Bacilli* ومفردها *Bacillus* ، وعادة لا تنتظم الخلايا العصوية فى تجمعات مميزة لأجناسها كما يحدث فى البكتيريا المستديرة . ولكن أحيانا تشاهد فى أزواج ويطلق عليها *diplobacilli* أو فى سلاسل *Streptobacilli* وفى غالبية الأحيان لا يعتبر التجمع نموذجا مرفولوجيا مميزا ولكنه يعزى إلى مرحلة من مراحل النمو أو إلى الظروف السائدة فى البيئة ، أى أنها ليست تجمعات ثابتة ومميزة للنوع . وتختلف مقاييس أنواع البكتيريا العصوية فى قياساتها فبعضها ذو خلايا طويلة والبعض الآخر يزيد طول خلاياه قليلا عن عرضها ، فى حين أن هناك أنواعا يصل طولها إلى أكثر من عدة مرات قدر عرضها .

بعض البكتيريا العصوية الشكل قد تتحول إلى أطوار مقاومة للحرارة تعرف بالجراثيم الداخلية Endospores كما فى الجنس *Bacillus* والجنس *Clostridium* .

٣ — البكتيريا ذات الشكل الحلزونى

عادة لا تتجمع خلايا البكتيريات الحلزونية ببعضها بل توجد مفردة دائماً . والخلايا الفردية للأنواع الحلزونية تظهر أشكالا مختلفة من حيث

الطول وعدد الانحناءات وصلابة الجدر الخلوية . فبعضها قصير وتعتبر عصا منحنية ذات انحناء واحد والبعض الآخر يكون طويل ويظهر سلسلة من الانحناءات والالتواءات. والخلايا القصيرة التى تكون حلزون غير كامل ذو انحناءة واحدة تسمى بكتيريا ضمية Comma أو *Vibrio* مثل البكتيريا المسببة لمرض الكوليرا *Vibrio cholerae* .

والبكتيريا العصوية التى تحتوى خلاياها على عدة انحناءات قد تبدو كالحلزون أو اللولب ويطلق عليها البكتيريا الحلزونية Spirilla ومفردها *Spirillum* (شكل ٤) .

٤ — الأشكال الأخرى للبكتيريا

معظم الدراسات المورفولوجية سالفة الذكر قد تمت على أنواع وأجناس البكتيريات الحقيقية True bacteria فى حين أن هناك عدة مجاميع من الكائنات الدقيقة التى تصنف تحت مملكة الكائنات الميكروبية تختلف فى شكلها المظهرى عن ما سبق وصفه فتكون أجسامها بشكل خيوط تعرف بالهيفات أو الترايكومات وهذه الخيوط قد تحاط بأغلفة خاصة تعرف بالـ sheaths أو لا تغلف إطلاقاً — وقد تكون أجسام ثمرية جالسة أو ذات أعناق — ومن هذه المجاميع ما يلى : —

أ — الأكتينوميسيتات

وهى مجموعة كبيرة من الكائنات الدقيقة التى تشبه الفطريات حيث تتميز أفرادها بتكوين ميسيلوم خيطى متفرع مكون من هيفات رفيعة وطويلة غير مقسمة بجدر عرضية وذات تفرعات عديدة قد تبدو مشابهة لهيفات الفطريات الطحلبية Phycomycetes إلا أن ميسليوم الأكتينوميسيتات ميسيليوم دقيق لا يتعدى قطر هيفاته ١٫٥ µm فى حين أن هيفات الفطريات الطحلبية يصل قطرها إلى ٥ µm أو أكثر لذلك فقد صنفت

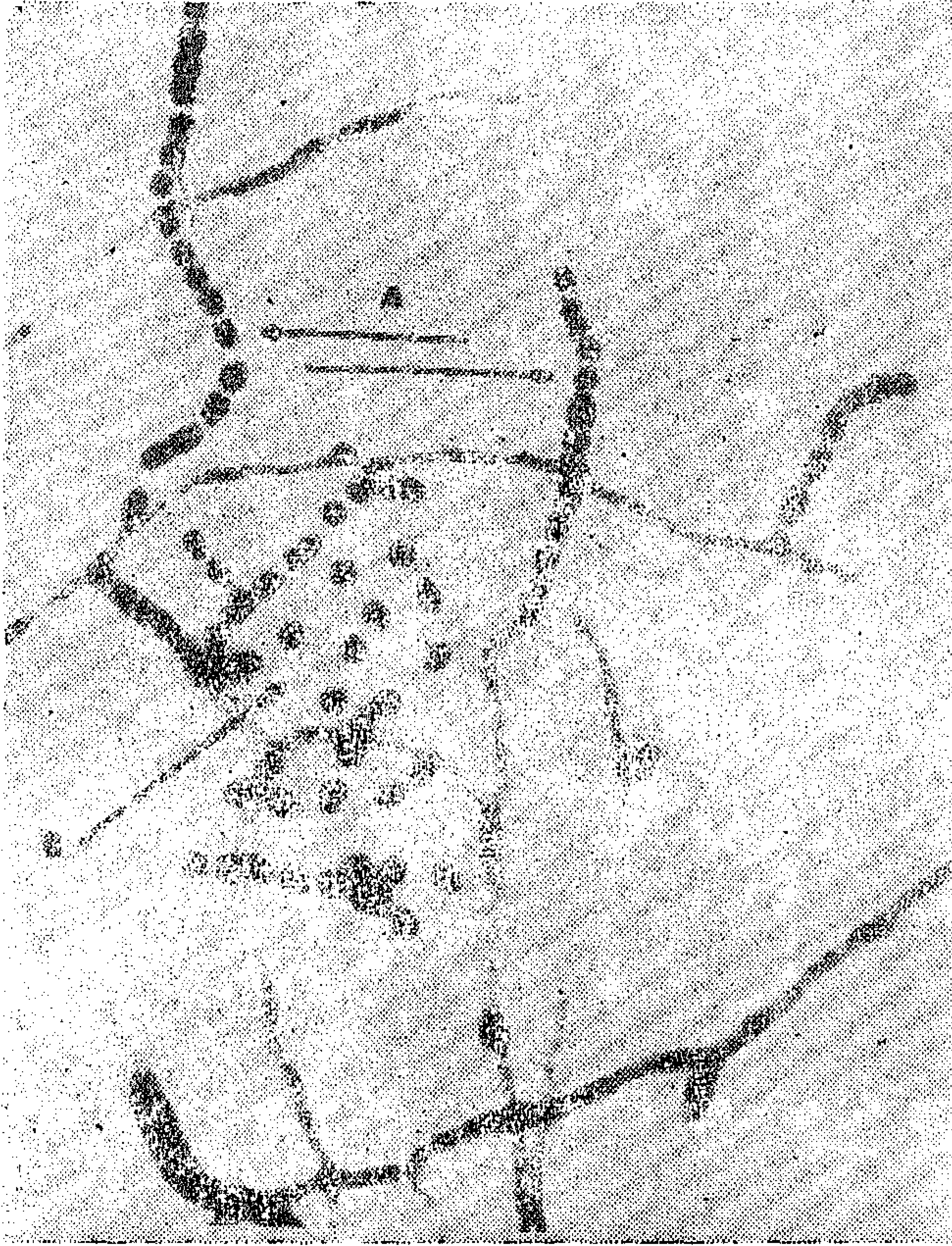
هذه الكائنات مع البكتيريات نظرا لدقة حجمها . وإذا نميت الاكتينوميسيتات وخاصة أفراد الجنس *Actinomyces* لمدةيوم أو يومين على بيئات آجار مناسبة تبدأ الهيفات فى التجزؤ إلى أجزاء فردية عصوية أو دائرية الشكل . أما أفراد الجنس *Streptomyces* فتعطى ميسيليوما مكونا لمستعمرات سطحية ذات قوام صلب أو طباشيرى ثم لا يلبث أن يرتفع النمو عن سطح البيئة مكونا ميسليوما هوائياً تحمل الهيفات الهوائية منهـا سلاسل من الجراثيم الكونيدية (شكل ٦) .

ب — **الكوريني بكتيريا** *Corynebacteria*

ضمت هذه البكتيريا إلى قسم الاكتينوميسيتات وهى عصويات مستقيمة أو منحنية قليلا وعند صبغها يلاحظ بداخلها مناطق غير منتظمة الصبغ وذلك لكثرة احتوائها فى كثير من الأحيان على حبيبـات الفوليوتين Volutin granules وغالبا تظهر بالخلايا انتفاخات بحيث تظهر وكأنهـا صولجانية (شكل ٧) . والخلايا لها ميل لتكون تجمعات من الخلايا تقع الواحدة بجوار الأخرى مثل عيدان الكبريت قد تسمى بالترتيب العمادى Palisade arrangement أو بشكل الحروف الصينية . وهى غالباً غير متحركة وموجبة لصبغة جرام . والنوع المثالى منها يتمثل فى البكتيريا المسببة لمرض الدفتيريا *Corynebacterium diptheriae* .

ج — **الميكوبكتيريا** *Mycobacteria*

ضمت هذه البكتيريا إلى الاكتينوميسيتات نظرا لمظهر خلاياها الذى يبدو وكأنه متفرعا. وخلايا هذا الجنس من البكتيريا عصويات مستقيمة أو قليلة الانحناء فى بعض الأحيان قد تكون خيوط ، سرعان ما تتكسر إلى وحدات عصوية كبيرة أو قصيرة (شكل ٨) وعندما تصبغ هذه البكتيريا بصبغة الفوكسين القاعدى المذاب فى محلول مائى للفينول فإن الخلايا تقبل

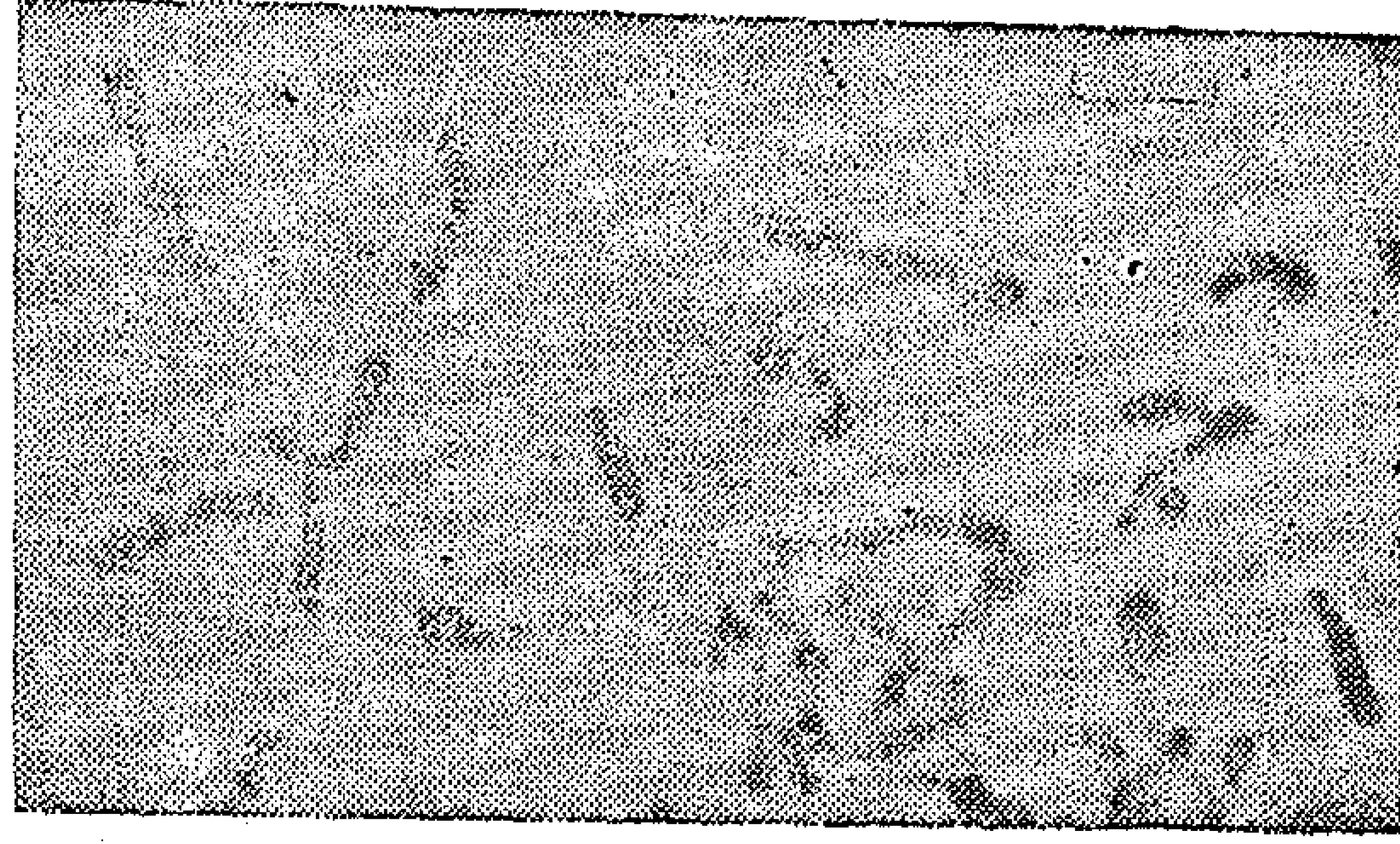


شكل ٦ : صورة ميكروسكوبية للبكتيريا . *Streptomyces* sp
لاحظ سلاسل الجراثيم الكونيدية المشار إليها بالسهم A وكذلك الجراثيم الكونيدية المبعثرة والمشار إليها بالسهم B .(× ٢٢٥٠) ، (عن Klieneberger - Nobel 1965)

الصبغة ولا تخرج منها حتى عقب المعاملة بالكحول الحامضى وهذه الصفة تعرف بالصبغ المقاوم للأحمـاض Acid fastness . والأنواع التى ينطبق عليهـا الصفات السالفـة الذكر هى البكتيريا المسببـة لمرض السل *Mycobacterium tuberculosis* والبكتيريا المسببة لمرض الجذام(*M. leprae*(*leporsy*

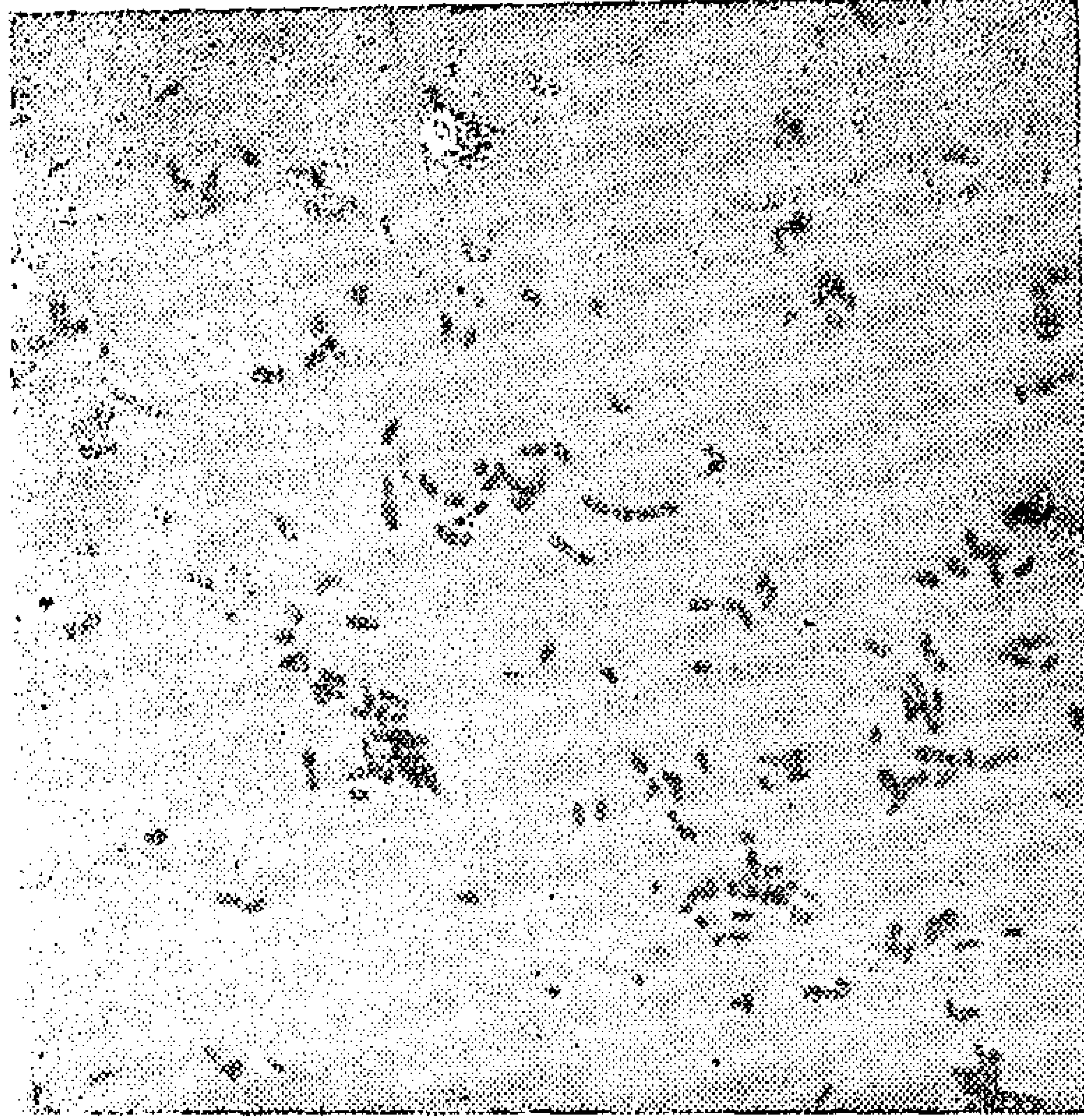
د — البكتيريا الهلامية *Myxobacteria*

إن للبكتيريا الهلامية بعض الصفات المميزة لها عن باقى المجاميع البكتيرية فالخلية الفردية لهـا القدرة على التحرك حركة انزلاقية رغم

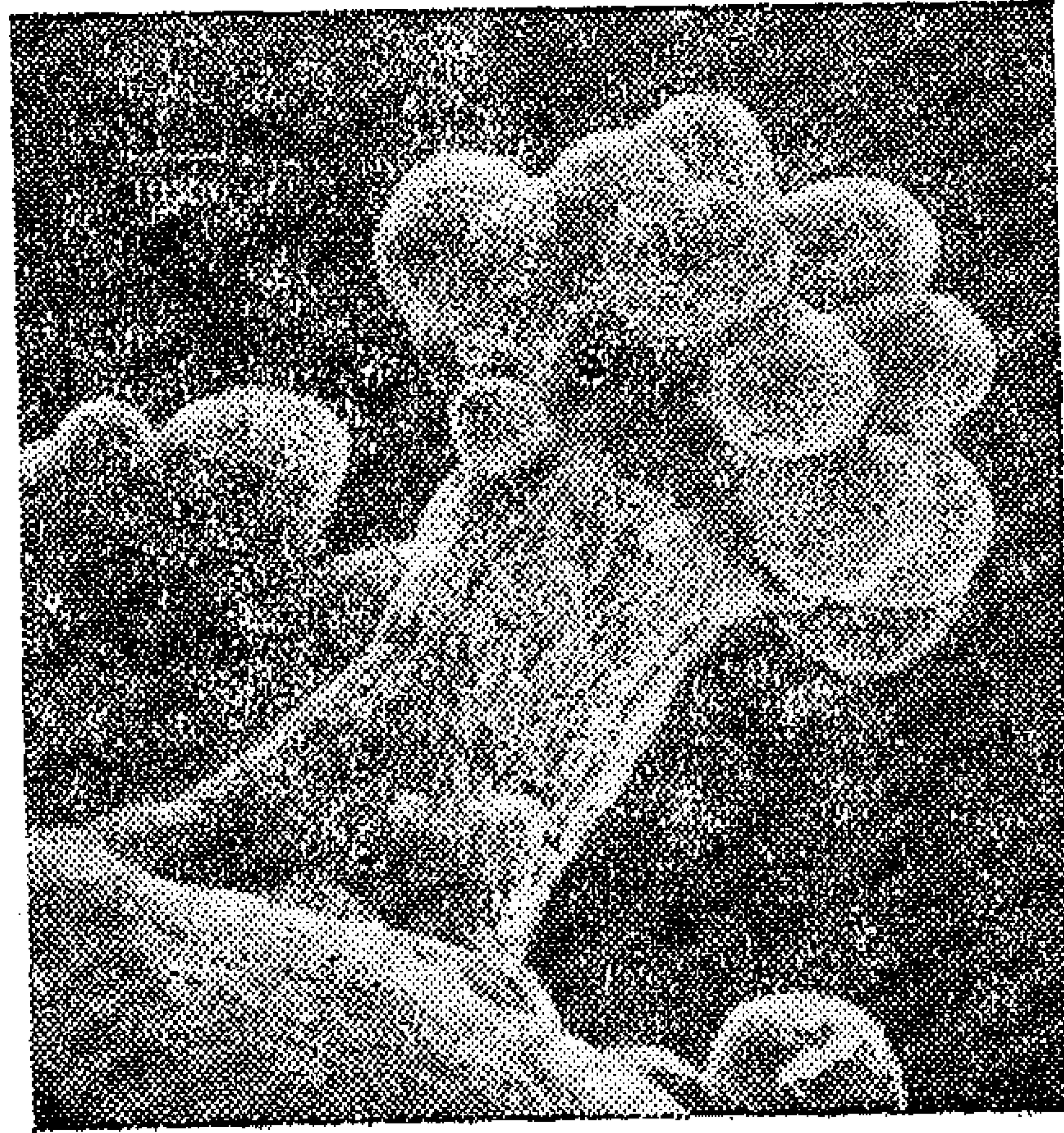


شكل ٧ : صورة لخلايا الكوريني بكتيريا (*Corynebacterium diphtheriae*)
باستعمال مجهر تباين الأطوار (عن Nester et al. 1973)

عدم امتلاكها أعضاء خاصة بالحركة . وصفة أخرى مميزة لهذه المجموعة هي قدرتها على التجمع في مجاميع swarms تظهر بشكل كتل هلامية ، لهـا القدرة على التحرك الجماعي في اتجاه واحد تعرف بالمجاميع المنزلقة ولكل خلية من الخلايا المكونة للمجموعة المتحركة نواتين أو تركيبين نوويين مميزين ، وباستمرار نمو الخلايا في المجموع المتحرك يتغير بشكل الخلايا الفردية منه وتصبح أقصر طولا ، بيضية أو كروية الشكل ثم تحيط نفسها بجدار خارجي سميك . وتعرف الخلية حينئذ بالحويصلة microcyst وترتبط الحويصلات ببعضها بطبقة هلامية سميكة مكونة لما يعرف بالجسم الثمري Fruit body . وفي بعض الأنواع تتخذ الأجسام الثمرية أشكالا مميزة فقد تكون جالسة أو ذات عنق (شكل ٩) ، وعادة تكون الأجسام الثمرية ملونة بلون أصفر أو برتقالي أو أحمر .



شكل ٨ : خلايا بكتيريا تابعة للجنس *Mycobacteria*
(١٠٥٠ ×) (عن Burrows 1973)



شكل ٩ : جسم ثمرى لأحد أنواع الـ Myxobacteria
(*Chondromyces crocatus*) (عن Pangborn et al. 1975)

المراجع

Anderson, R. J. 1940. The Chemistry of Lipids of HarveyLectures 35. 271 — 313.

Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manua lof Determinative Bacteriology. 8th Edition. The Williams Company, Baltimore. 1268 p.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035 p.

Dubos, R.J. 1947. The Bacterial Cell. Cambredge, Mass. Harvard University Press.

Henrici, A.T., and D.E. Johnson. 1935. J. Bact. 29 : 3—4, 30 : 61 — 86.

Hugo, W.B. 1972. An Introduction to Microbilogy. Second Edition. William Heinemann Medical Books LTD, London. 162 p.

Klieneberger-Nobel, E. 1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York 145 p.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Holt, Rineha rt and Winston., New York. 769p.

Pangborn, J., P.L. Grillione, and Pangborn. 1975. J. Bacteriol. 124 : 1558.

Stanier, R.Y., M. Doudoroff and E.A. Adelberg. 1972. General Microbiology. The Macmillan. Press LTD, London 873 p.

Thimann, K.V. 1961. The Life of Bacteria. The Macmillan Company, New York, 775 p.

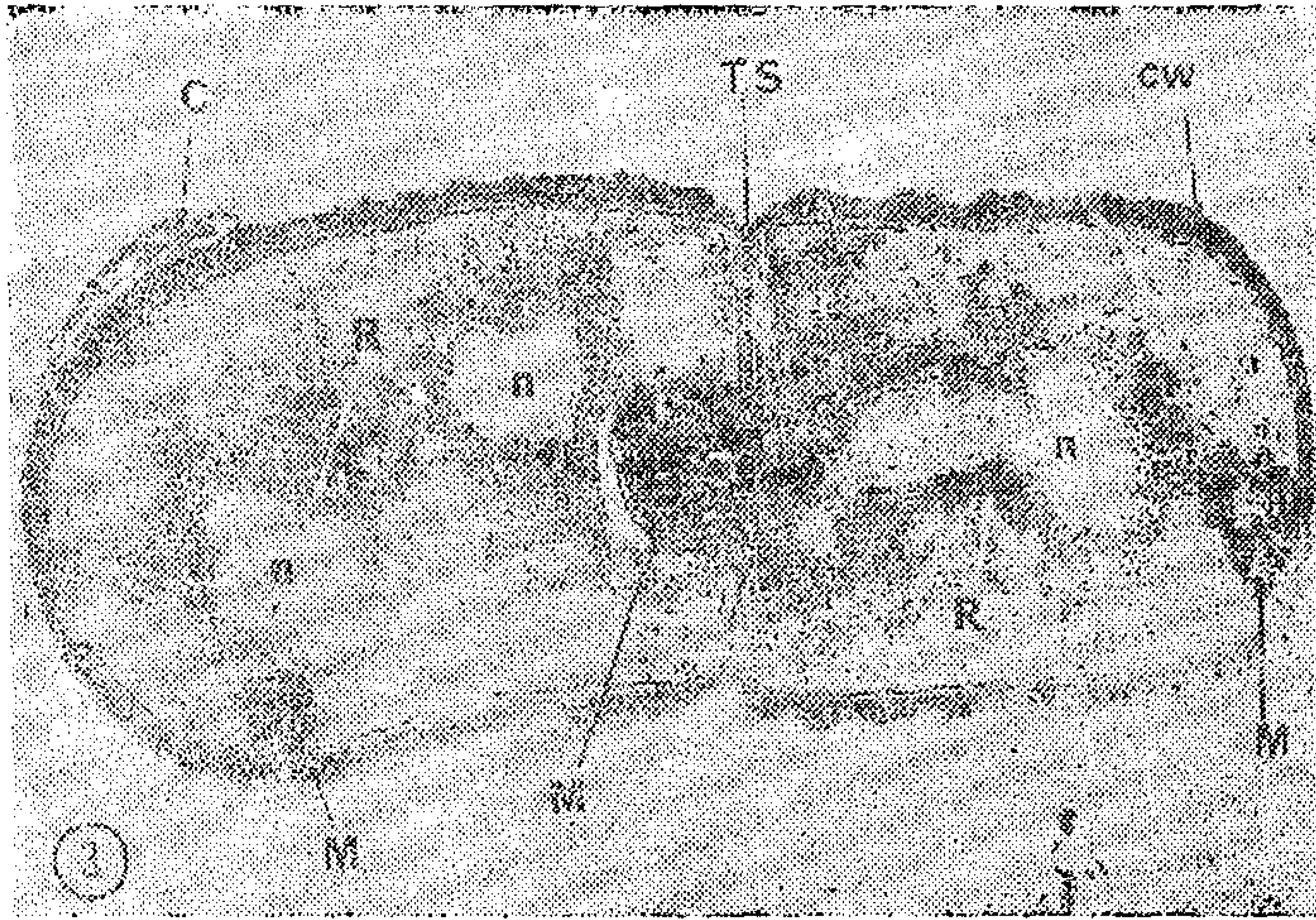
Wilson, G.S. and A.A. Miles. 1964. Topley and Wilson's Principles Bacteriology Volume 1 and 2. Fifth Edition, Edward Arnold (Publicshers), London.

الفصل الثانى

التركيب الداخلى للخلية البكتيرية

إن دراسة التركيب الداخلى أو التركيب التشريحى للخلية البكتيرية ليس بالسهولة التى يدرس بها تشريح الخلايا النباتية أو الحيوانية . ويرجع ذلك إلى دقة حجم الخلية البكتيرية . ويستغل الميكروسكوب الالكترونى فى مثل هذه الدراسات، حيث أمكن بواسطة إيضاح التركيب الداخلى للخلايا البكتيرية الكاملة . ويمكن أيضا إجراء عمليات العزل الكيماوى المتجزىء fractionation والحصول على تجزؤات كيماوية مختلفة different fractrions من الخلية البكتيرية وفحص ودراسة كل منها للتحقق من طبيعته الكيماوية توطئة لتفهم الوظيفة التى يؤديها للخلية .

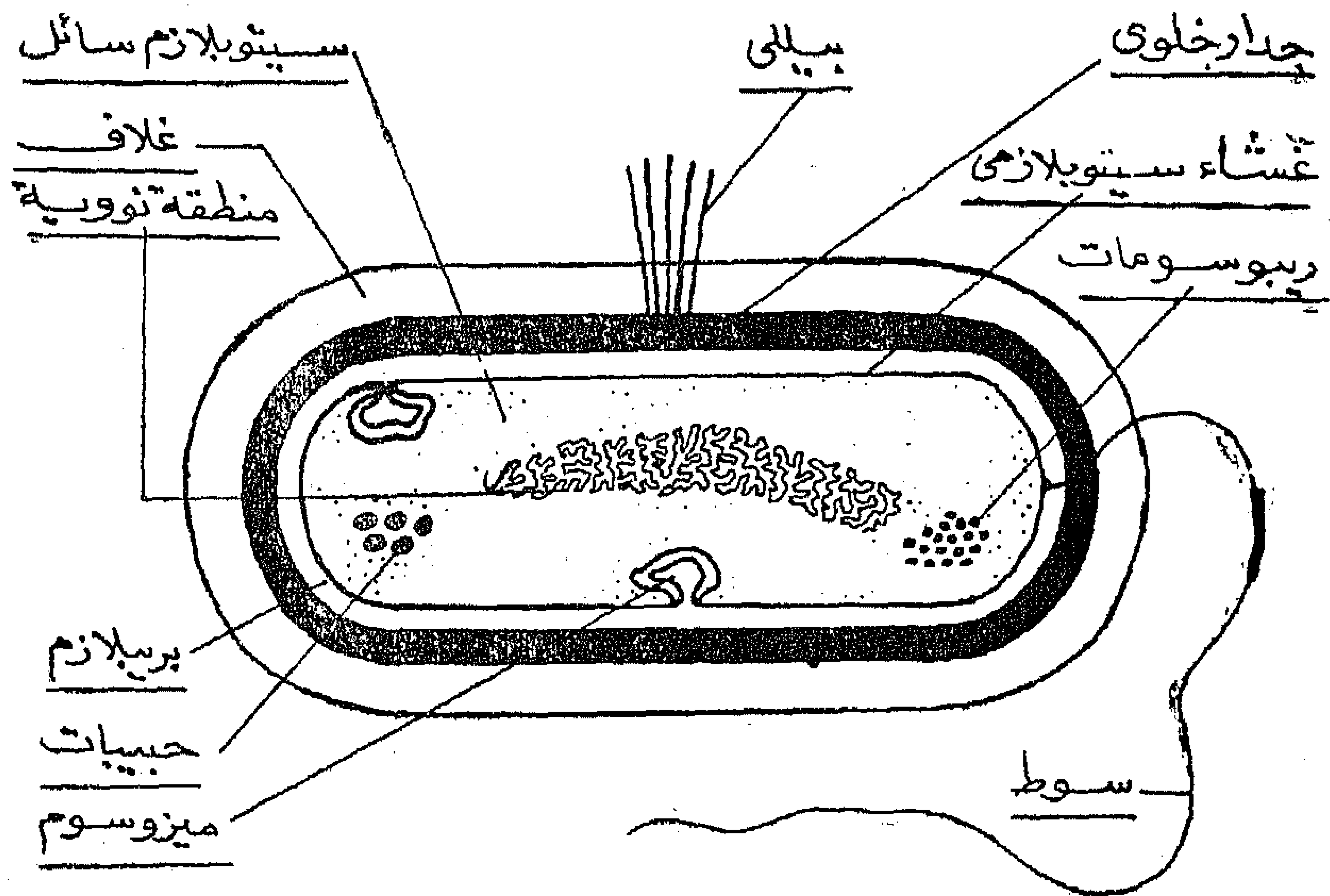
والخلية البكتيرية تتركب من سطح خلوى ومن تركيبات داخلية تقع تحت هذا السطح (شكلى ١٠ ، ١١) ويتركب السطح الخلوى من منطقة الغلاف capsular area ، والجدار الخلوى cell wall ، والغشاء الخلوى cell membrane والذى يعتبر أيضاً ضمن المحتويات الداخلية وتوجد أيضاً منطقة تسمى بريبلازم periplasm بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى أما التركيبات التى توجد بداخل الخلية فهــى تشمل السيتوبلازم ، والجهاز النووى nucleoplasm ، والميزوسومات mesosomes ، والريبوسومات ribosomes ، والحبيبات granules ، وحوامل الألوان chromatophores ، وسوف يشمل هذا الفصل وصفاً لكل من التراكيب الأساسية المذكورة لمعرفة تركيبها والوظائف الحيوية التى يؤديها كل للخلية .



شكل ١٠ : صورة إلكترونميكروسكوبية لخلية من البكتيريا *Bacillus megaterium* فى مرحلة الإنقسام .

C W = الجدار الخلوى　　T S = حاجز عرضى
C = الغلاف　　M = ميزوسوم
R = ريبوسومات　　n = منطقة نووية

(عن Lundgren et al. 1967)



شكل ١١ : رسم تخطيطى لقطاع عرضى فى خلية بكتيرية يبين التراكيب الخلوية الأساسية

أولا : السطح الخلوى

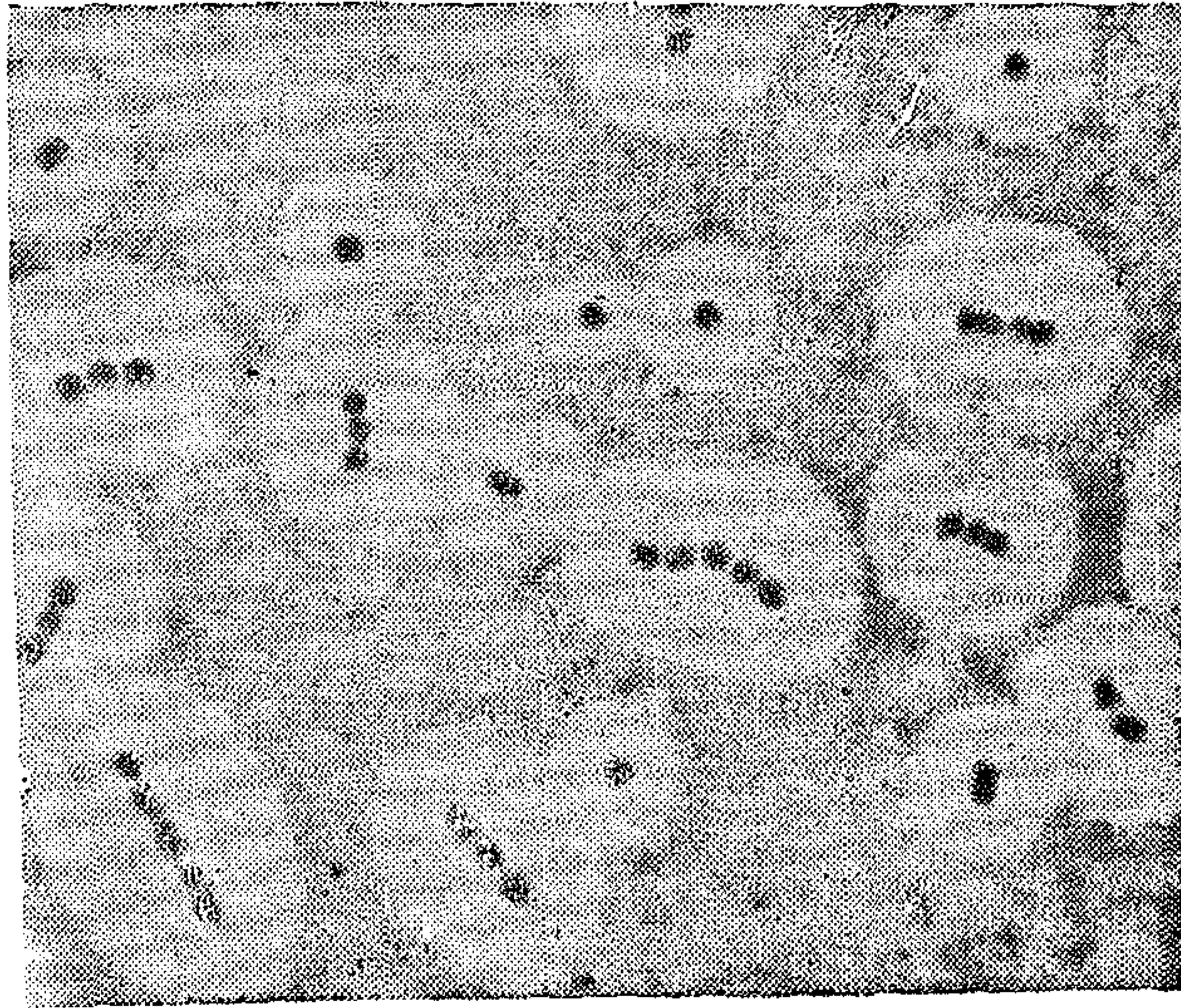
ا ـ الغلاف Capsule

تحاط البكتيريا بطبقة هلامية slimy أو لزجة viscous تسمى الغلاف capsule كما يطلق عليها أسماء أخرى منها الطبقة الخارجية outer layer . أو الهلامية slime layer . ويتراوح سمك هذه الطبقة بين الأغشية الرقيقة جدا يصعب تحديدها وتعرف بالأغلفة الدقيقة microcapsules إلى طبقات كثيفة يربو سمكها على قطر الخلية البكتيرية نفسهـا (شكل ١٢) . وفى بعض الأنواع لا تكون طبقة الغلاف متساوية السمك حول سطح الخلية . وقد تذوب المواد الهلامية المكونة لطبقة الغلاف فى البيئة ويؤدى ذلك إلى زيادة لزوجة المزرعة . وبذلك فإنه فى الحالة الأخيرة قد لا يظهر أى أثر للغلاف حول الخلية بالرغم من قدرتها على إفراز مادة الغلاف . وعادة لا تظهر طبقـة الغلاف عند صبغ أغشية الخلايا بالطرق العادية ، وذلك لفشل هذه الطبقة فى الاحتفاظ بالصبغة . لذا يفضل استعمال طرقا خاصة لتوضيح طبقـة الغلاف هذه .

والتركيب الكيماوى للغلاف يختلف باختلاف النوع وقد يختلف حتى بين سلالات نفس النوع البكتيرى . وجدول ٢ يوضح مدى الاختلاف فى التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف فى بعض الأنواع والسلالات البكتيرية المختلفة.

ومن الملاحظ أنه توجد بعض أنواع من البكتيريا لا تحتوى إطلاقاً على طبقة غلاف وبعض أنواع أخرى قد تفقد أغلفتها بدون أن يؤثر ذلك على حيويتها أو معدل نموها . وفى بعض الأنواع الأخرى فإن تكوين طبقـة الغلاف يتحدد بعوامل بيئية معينة . ومن البكتيريات التى تكون مواد غلاف تذوب فى البيئة لتزيد من لزوجة المزرعة النامية بها تلك التى تنمو على بيئة السكروز مكونة لمواد عديدة التسكر يعرف بالدكستران dextran (عديد





شكل ١٢ : الغلاف البكتيرى : الصورة العليا لخلايا مغلفة عصوية (عن Nester et al. 1978)
والصورة السفلى خلايا كروية مغلفة (عن Levey et al. 1973) .

الجلوكوز Polglucoses) أو يعرف بالليفان Levans (عديد الفركتوز Polyfructoses) وعديدات التسكر هذه قد تخلق فقط من السكروز وليس من غيره من السكريات ومن أمثلة ذلك ، البكتريا *Leuconostoc mesenteroides* التى تنمو مكونة مستعمرات صغيرة فى وجود الجلوكوز ومستعمرات مخاطية كبيرة نتيجة لتكوين طبقة الغلاف فى وجود السكروز . وقد يتحول عصير قصب السكر عند صناعة السكر إلى مواد هلامية عديمة القيمة عند تلوثه بالبكتيريا *Leuconostoc dextranicum* مسببة خسائر باهظة نتيجة لإفرازها مواد غلافية عبارة عن ديكسترانز .

وينعكس وجود أو غياب طبقة الغلاف على الشكل الظاهرى أى على مظهر المستعمرات على البيئات الصلبة (شكل ١٣) . فستعمرات البكتيريا التى تخلق الغلاف تكون ذات مظهر رطب لامع هلامى وتسمى هذه المستعمرات بالمستعمرات الناعمة Smooth (S) ، أما فى حالة غياب الغلاف فإن المستعمرات الناتجة تظهر بشكل غير لامع غير مرتفع عن سطح الاجار تعرف بالمستعمرات الخشنة Rough (R) . وقد تكون طبقة الغلاف كبيرة فتتكون مستعمرات مخاطية Mucoid (M) . وقد توجد درجات متوسطة الخشونة والنعومة بين R و S تسمى بالحالات الوسطية Intermediate (I) . ووجود الغلاف له تأثير واضح على مظهر النمو فى البيئات السائلة أيضاً فالمزارع الناعمة يتميز نموها فى البيئات السائلة بتكوين معلق بكتيرى ثابت stable لا يترسب ولا يطفو على السطح فى حين أن المزارع الخشنة والمجعدة تترسب عند نموها فى البيئات السائلة أو قد تطفو على سطح البيئة مكونة لغشاء سطحى أو مكونة لغشاء حلقى ملاصق لسطح الوعاء المحتوى على المزرعة .

وأحياناً يكون وجود طبقة الغلاف مرتبط بالقدرة المرضية virulence

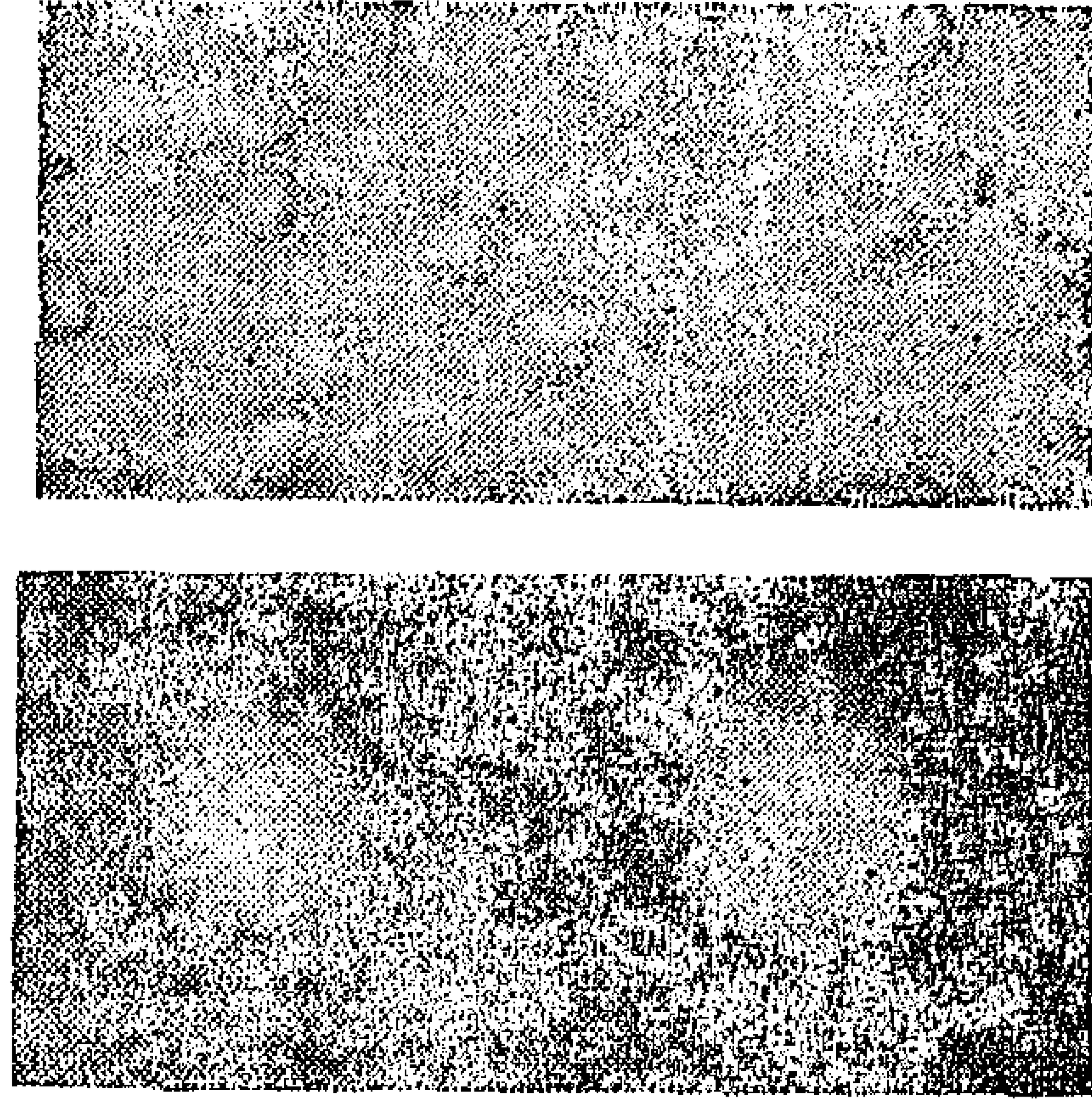
جدول ٢ : التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف فى بعض الأنواع البكتيرية المختلفة

اسم البكتيريا	طبيعة الغلاف	الوحدة الكيماوية
Leuconostoc mesenteroides	دكستران	جلوكوز
Streptococcus salivarius	ليفان	فركتوز
Acetobacter aceti sub sp. *xylinum*	سيلليولوز	جلوكوز
Streptococcus pneumoniae	أنواع مختلفة من عديدات التسكر حسب الطراز :	
طراز رقم ٢	polymer of glucose	جلوكوز
طراز رقم ٣	جلوكوز مع حمض جلوكيورونيك مرتبطين بالرابطة ١ ٤ لتعطى 4-β glucuronosidoglucose أو Cellobiuronic acid	
طراز رقم ٦	عديد التسكر	جالاكتوز ، جلوكوز ورامنوز
طراز رقم ١٢	عديه التسكر	جالاكتوز . جلوكوز N-acetylglucosamine
طراز رقم ١٨	عديد التسكر	رامنوز، جلوكوز
Aerobacter aerogenes	عديد التسكر	جلوكوز و fucose glucuronic acid,
Bacillus anthracis	عديد الببتيد	حمض الجلوتاميك
Bacillus megaterium Strain **M**	عديد البيتيد وعديدات التسكر	

للبكتيريا ، فمثلا فى حالة البكتيريا *Streptococcus pneumoniae* التى تسبب الألتهاب الرئوى فإن المستعمرات الناعمة (S) تكون قادرة على إحداث العدوى أما المستعمرات الخشنة (R) من نفس النوع البكتيرى فلا تكون قادرة على إحداث المرض حيث أن الخلايا غير المغلفة يسهل التخلص منهـا بواسطة النظام الدفاعى فى جسم الحيوان Phagocytes أكثر من الخلايا المغلفة . أو بمعنى آخر طبقة الغلاف تحمى الخليـة البكتيرية من النظام الدفاعى بداخل جسم العائل .

وأيضاً فى حالة البكتيريا الممرضة للنباتات فهناك بعض أمثلة تدل على أن مادة الغـلاف ضرورية لمرضيـة البكتيريا . فنى حالة البكتيريا *Pseudomnas solanacearum* المسببة للعفن البنى فى البطاطس والذبول فى عديد من العوائل النباتية فإن السلالات غير الممرضة لا تحتوى على طبقة الغلاف أما السلالات الممرضة فهى تفرز الغلاف المكون من عديدات التسكر والذى يسبب لزوجة السوائل وإعاقة حركتها بداخل الأوعيـة الخشبية المصابة مسبباً أعراض الذبول . علاوة على أن إفراز مادة الغلاف هذه بأنسجة النبات العائل قد يؤدى إلى تأثير سام phytotoxic للنبات العائل.

وقد ثبت أن الغلاف ضرورى أيضاً لمرضية البكتيريا *Streptococcus mutans* وهى الكائن الأساسى الذى يسبب تسوس الأسنان فى الإنسان والتى تتطلب وجود طبقة الغلاف فى كتل كبيرة كأحد مكونات الـ plaque على سطح الأسنان لتتمكـن البكتيريا من تحليل مادة الأسنان ، وهـذا الالتصاق يتطلب غالباً وجود غلاف من الجلوكان glucan والفروكتان fructan والذى يخلق بطريقة تخصصية من السكروز وليس من أى سكريات أخرى. وبالرغم من أن هذه البكتيرياً تستطيع التكاثر فى غياب السكروز إلا أن وجود السكروز فى الغذاء يساعدها على بناء الغلاف وبالتالى تلتصق بالأسنان وتسبب التسوس .



شكل ١٣ : صورتان لأشكال مستعمرات بكتيرية نامية على بيئة صلبة — بالصورة العليا مستعمرات ناعمة ولامعة للبكتيريا *Neisseria gonorrhoeae* وبالصورة السفلى مستعمرات خشنة للبكتيريا *Bacillus anthracis* (عن Burrows 1973)

ولا توجد أدلة واضحة تبين ما هي القوى أو الروابط التى تمسك الغلاف فى وضعه حول الخلية ويقترح البعض أن بعض مواد من الجدار قد تبرز للخارج لتكون روابط كيماوية تعاونية Covalent bonds قد تربط هذه الأجزاء البارزة مع سواد الغلاف الحقيقى .

٢ — الجدار الخلوى Cell Wall

للجدار الخلوى أهمية كبيرة للخلية البكتيرية وقد تمت عليه دراسات عديدة لما يتمتع به هذا التركيب من أهمية خاصة منها :

- أنه يحتوى على مكونات كيماوية لا توجد فى أى مكان آخر فى الطبيعة .
- يمكن لتحضيرات نقية من الجدر الخلوية لبعض الكائنات أن تنتج أعراضا مرضية .
- كثير من المضادات الحيوية يكون تأثيرها مركزا على بناء الجدار الخلوى.

– الاختلاف فى التركيب الكيماوى للجدر الخلوية للخلايا الموجبة والسالبة لصبغة جرام .

والجدار الخلوى البكتيرى تركيب صلب يعطى الخلية شكلها المميز بالرغم من ضآلة سمكه الذى لا يزيد عن ١٠ nm* فى البكتيريات السالبة للجرام ويتراوح بين ٢٠ – ٨٠ nm* فى الموجبة لجرام . ويمثل الجدار الخلوى فى البكتيريا عموما ما يقرب من ٢٠ ٪ من الوزن الجاف للخلية بأكملها . وتبعاً لتفاعل الخلايا مع بعض الصبغات ، أمكن تجميع البكتيريا بوجه عام فى مجموعتين أساسيتين الأولى هى البكتيريات الموجبة لجرام Gram positive والثانية البكتيريات السالبة لجرام Gram negative . وهذا التقسيم يعتمد على قابلية الخلايا للاحتفاظ بالصبغة القاعدية الكريستال البنفسجى عندما تغسل بالكحول من عدمه (راجع الجزء العملى) . ويعتقد أن ذلك لابد وأن يعكس بعض الاختلاف فى كيمياء الطبقات الخارجية من هذه الخلايا . وعموما فقد لوحظ بعض الفروق فى التركيب الكيماوى بين جدر البكتيريات السالبة لجرام وجدر البكتيريات الموجبة لها . فجدر البكتيريات السالبة لصبغة جرام تحتوى على نسبة عالية من الدهون تقدر بما يتراوح بين ١١ – ٢٢ ٪ من الوزن الجاف للجدار نفسه وتحتوى على سكريات أمينية بنسبة منخفضة تتراوح بين ٢ – ٨ ٪ من الوزن الجاف للجدار وتحتوى على كل الأحماض الأمينية التى قد توجد فى البروتينات . أما جدر البكتيريات الموجبة لجرام فلا تشتمل على دهون أو قد تحتوى على نسبة قليلة منها (صفر – ٣ ٪) وتحتوى على نسبة عالية من السكريات الأمينية (١٥ – ٢٢ ٪) وعلى عدد محدود من الأحماض الأمينية . وعند إزالة الجدار الخلوى من على سطح الخلية بأى طريقة من الطرق فإنه

---

* nanometer nm = ١٠-٩ متر

يلاحظ أن الغشاء البروتوبلاستى وهو غشاء شبه منفذ يقع تحت الجدار مباشرة يمكنه أن يحمى الخلية من القوى الاسموزية وبذلك يمكن للبروتوبلاست العارى الذى يتخذ الشكل الدائرى باستمرار أن يواصل نموه وعلى ذلك فإن الجدار ما هو إلا هيكل صلب يعطى للخلية شكلها التى تشاهد عليه كما يحوى بداخله المواد البروتوبلازمية ليحميها من التأثيرات الخارجية .

صبغة جرام Gram stain

من أهم طرق الصبغ المركب أو الصبغ التفريقى للبكتيريات الحقيقية. وأول من استعمل هذه الطريقة طبيب دانمركى كان يعمل فى برلين يدعى Christian Gram (١٨٨٤) ، قابلته مشكلة التفريق بين البكتيريا التى تسبب الالتهاب الرئوى وبين النويات فى أنسجة الثدييات المصابة أو بمعنى آخر كان يبحث عن طريقة يصبغ بها خلايا البكتيريا دون أن تصبغ بها أنوية الأنسجة الحيوانية . فقد لاحظ أن بعض البكتيريا لم تحتفظ بالصبغة ولكن هذا الفشل كان هو الأساس فى إيجاد طريقة هامة للصبغ التفريقى يفرق بها بين البكتيريات المختلفة عرفت فيما بعد بتفاعل جرام .

وللحصول على نتائج حقيقية عن تفاعل جرام يجب أن تكون المزرعة حديثة النمو عند إجراء الصبغ . وتتلخص هذه الطريقة فى تجهيز غشاء بكتيرى ثم صبغه بمحلول من الكريستال البنفسجى ثم باليود ثم الغسيل بالكحول فتغسل الصبغة البنفسجية من البكتيريات السالبة لجرام ولا تغسل فى الموجبة لجرام : ولتسهيل رؤية الخلايا فى الخلايا التى غسلت منها الصبغة تستعمل صبغة أخرى عكسية Counter stain حمراء اللون مثل السفرانين . Safranin

وقد يرجع الاختلاف بين البكتيريا الموجبة والسالبة لهذا التفاعل إلى أن سطوح الخلايا الموجبة لجرام أو الجزء القريب

ن السطح يحتـوى على ملح المغنسيوم لحامض الريبونيوكليك Ribonucleic acid . وهذا يكون مع كل من البروتين الخلوى وصبغة الكريستال البنفسجى واليود مركب معقد بنفسجى اللون يثبت فى الخلية ولا يذوب فى الكحول فتصبح الصبغة مقاومة للإزالة عند الغسيل بالكحول ، أما البكتيريا السالبة لصبغة جرام فإن التركيب الكيماوى لسطح خلاياها لا يحتوى على الملح المغنسيومى لحمض الريبونيوكليك وبالتالى لا تكون المركب المعقد المذكور فيسهل غسيل الصبغة منه بالكحول . ويلاحظ أن بعض المزارع الموجبة لجرام قد تفقد إيجابيتها وذلك لبعض الأسباب التالية :

١ — عندما تتقدم الخلايا فى العمر .

٢ — عند ارتفاع حموضة البيئة .

٣ — عند المعاملة بأنزيم Ribonuclease

٤ — إذا سحقت الخـلايا الموجبة لجرام مع برادة الزجاج لتكسير جدرها فإن بقايا الخلايا المهشمة تفقد إيجابيتها لجرام .

وللجدار الخلوى دورا واضحاً فى تفاعل جرام فإن جـدر بعض الخلايا الموجبة لجرام يمكن أن تذاب تماماً بواسطة أنزيم الليزوزايم lysozyme ، فإذا صبغت مثل هذه الخلايا بصبغة جرام ثم عوملت بالأنزيم فإن البروتوبلاست (الخلية العارية من الجدار) تحتفظ بالصبغة ، مما يدل على أن الخلية نفسها وليس الجدار هو مكان تفاعل جرام . فى حين أنه يمكن أن يزال اللون من البروتوبلازم عن طريق الغسيل بالكحول ، مما يدل على أن جدار الخلايا الموجبة لجرام يرتبط بالبروتوبلاست بطريقة تجعله يعمل حاجزا Barrier يمنع غسيل معقد الصبغة Dye complex من الخلية ومما يؤيد هذا التفسير أيضاً أن الخلايا الموجبة لجرام فى بعض الأحيان تصبح

سالبة لجرام فى المزارع الكبيرة السن لكثرة إفراز الإنزيمات التى تحدث ضرر للجدر الخلوية وهذا الضرر يغير من نفاذية الجدار الخلوى وبالتالى تذوب ويغسل معقد الصبغة بالكحول ويؤيد هذا التفسير أيضاً أن استعمال المذيب (الكحول) لمدة طويلة جدا عند إجراء الصبغ يحول الخلايا الموجبة إلى سالبة .

التركيب الكيماوى للجدار الخلوى

إن التركيب الكيماوى المميز للجدار الخلوى البكتيرى هو المسئول عن صلابتها فالهيكل الأساسى للجدار الخلوى البكتيرى يتكون من الميوكوببتيد mucopeptide والذى يطلق عليه أيضاً إسم ميورين murein أو peptidoglycan أو mucopolysaccharide أو glycopeptide أو glucosaminopeptide . وأن نسبة هذه المادة فى الجدار تتراوح بين ٥٠ — ٨٠ ٪ فى معظم البكتيريا الموجبة لجرام ومن ١ — ٥ ٪ فى البكتيريا السالبة لجرام كما أنه لا يوجد إطلاقا فى البكتيريا المحبة للملوحة halophilic bacteria . وأن الميوكوببتيد المحضر والمفحوص من كل المصادر يحتوى على نوعين من السكريات الأمينية ألا وهما حمض الاستيايل ميوراميك N - acetylmuramic acid والاسيتايل جلوكوز أمين N - acetylglucosamine مع وجود عدد محدود من الأحماض الأمينية فى روابط ببتيدية وهى د ، ل الانين D and L - alanine و د - حمض الجلوتاميك D - glutamic acid .

وحمض داى امينو بيميلك Diaminopimelic acid أو ليسين L - Lysine (شكلى ١٤ و ١٥) ويعتقد حالياً أن تركيب الميوكوببتيد ما هو إلا سلسلتين من السكريات الأمينيه كل منها تتكون من الاستايل جلوكوزأمين بالتبادل مع الاسيتايل ميوراميك وهاتين السلسلتين (هى فى الواقع سلاسل من عديدات التسكر) قد تتصلان عرضياً بواسطة سلسلتين قصيرتين من

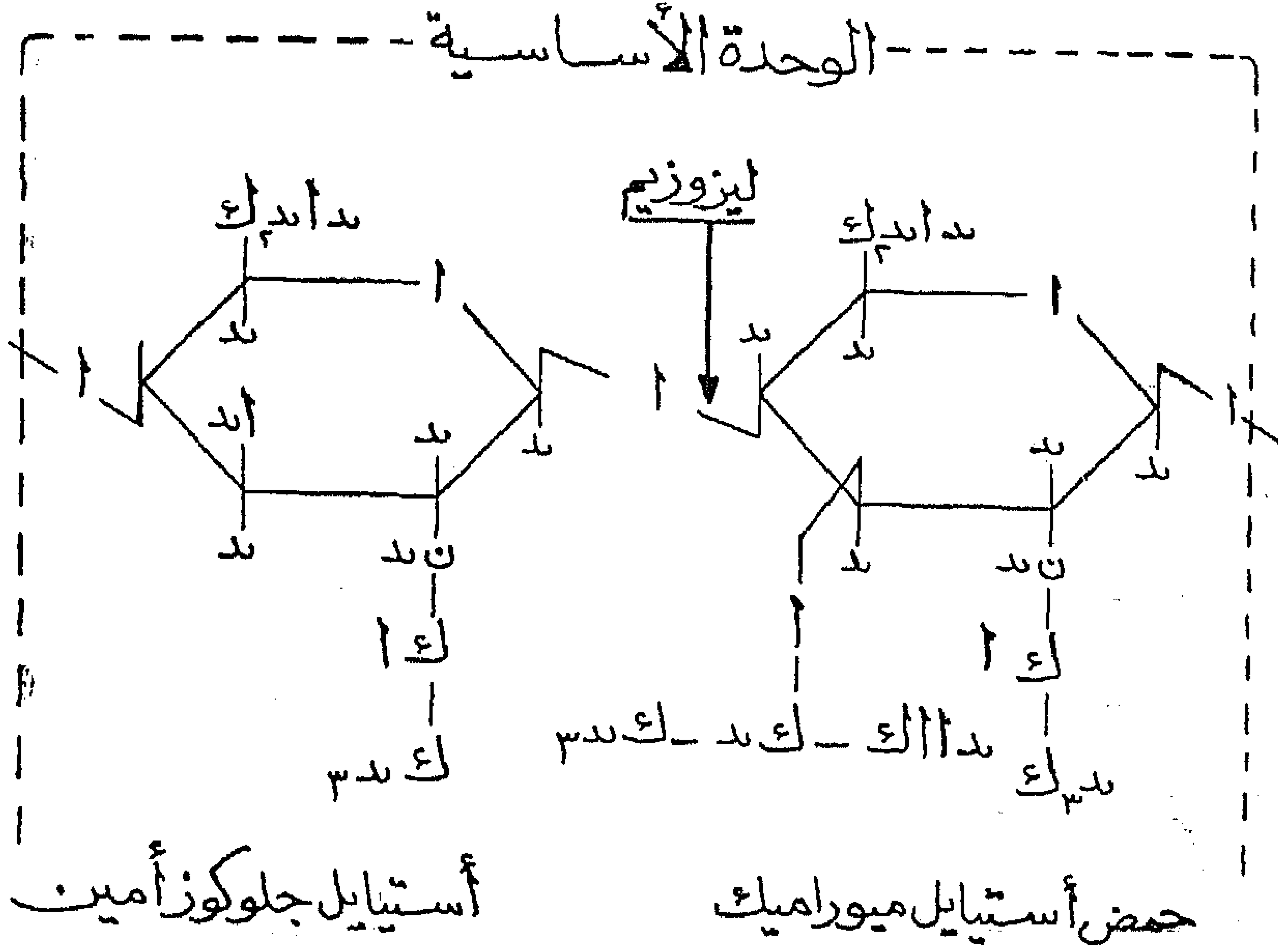
عديدات الببتيد ذات عدد معين من الأحماض الأمينية السابق ذكرها (شكل ١٦ وشكل ١٧) .

حمض داى أمينو بيميليك

ل ليسين

حمض الميوراميك

شكل ١٤ : التركيب الكيماوى لبعض المركبات التى تدخل فى تركيب الميوكوببتيد

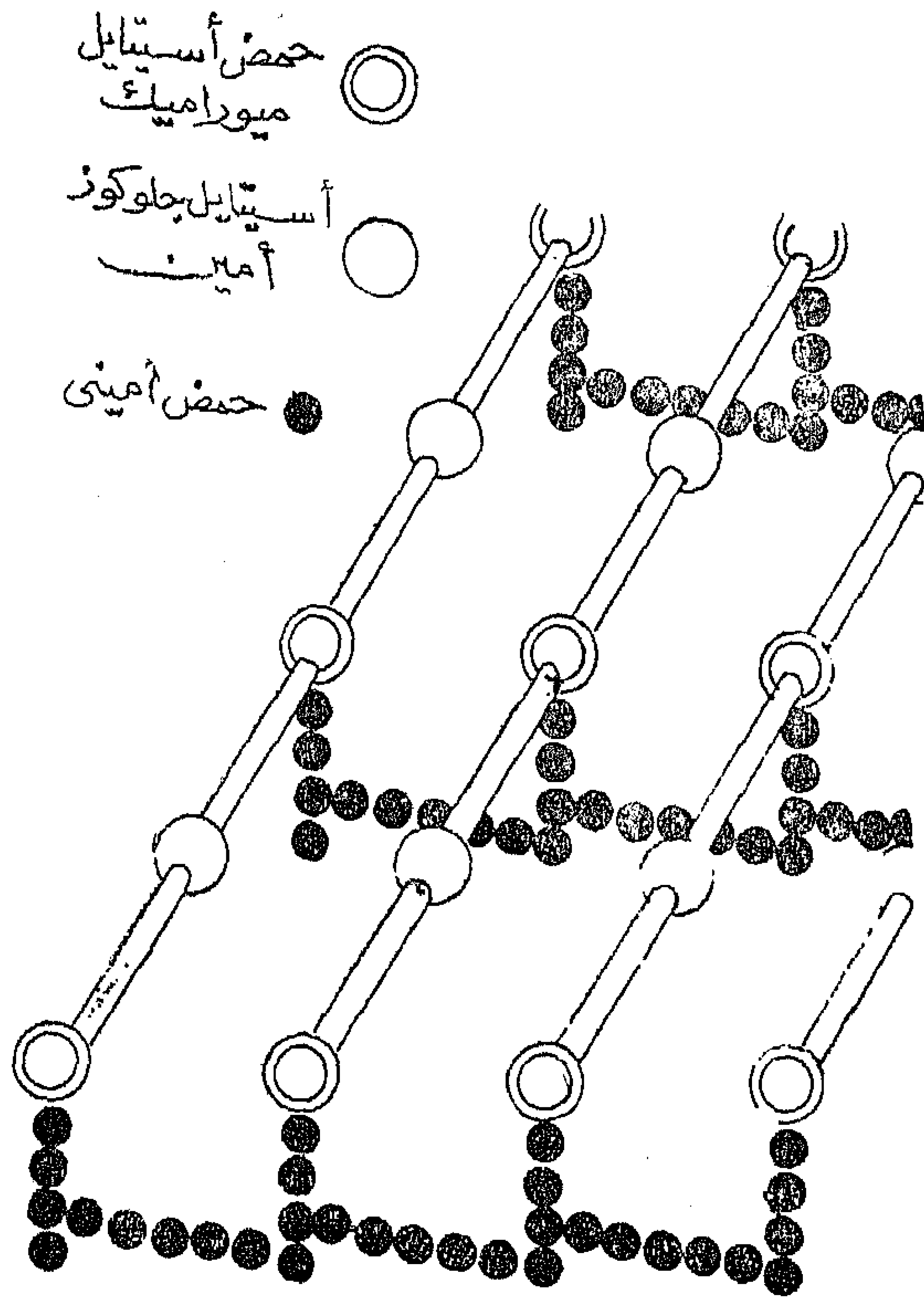


شكل ١٥ : التركيب الكيماوى للوحدة الأساسية Basic unit التى يتكون منها الميوكوببتيد .

قبل دراسة الجدر الخلوية البكتيرية كيماويا يجب أولا عزلها وتخليصها من المكونات الأخرى للخلية. والطريقة المتبعة فى ذلك عادة هى التحطيم الميكانيكى للخلايا ، ثم يتبع ذلك معاملات متعددة من الطرد المركزى التفريقى . وأن طريقة التحطيم المستعملة تؤثر على الحجم النهائى للأجزاء المكسورة (الشظيات) فإن الرج الميكانيكى مع حبيبات زجاجية دقيقة قد تؤدى إلى حدوث كسر واحد فى الجدار وبالتالى إنتاج شظيات كبيرة نسبيا فى حين أن الذبذبات الصوتية Sonic oscillation تنتج شظيات أصغر حجما لتعدد الكسور فى الجدار الخلوى .

ومن المعروف أن الميوكوببتيدات المكونة للجدر الخلوية غير ذائبة فى حين أن معظم إن لم يكن كل المكونات الخلوية الأخرى يمكن استخلاصها من الخلية وبالتالى فإن الأساس الكيماوى لعزل الميوكوببتيد تتلخص فى

شكل ١٦ : كيفية اتصال الأحماض الأمينية بالوحدة الأساسية للميوكوببتيد



شكل ١٧ : التركيب الجزيئى للميوكوببتيد .

الاستعانة بالمذيبات لإذابة الدهون والأحماض النووية والبروتينات من الخلية وبذلك تترك هذه المذيبات خلفها الميوكوببتيد النقى وهذه الطريقة بسيطة نسبياً وتستعمل كثيرا فى التحليلات الكيماوية للعينات الصغيرة .

وفيما يلى وصفاً للتركيب الكيماوى للجدر الخلوية للبكتيريا الموجبة والسالبة لجرام .

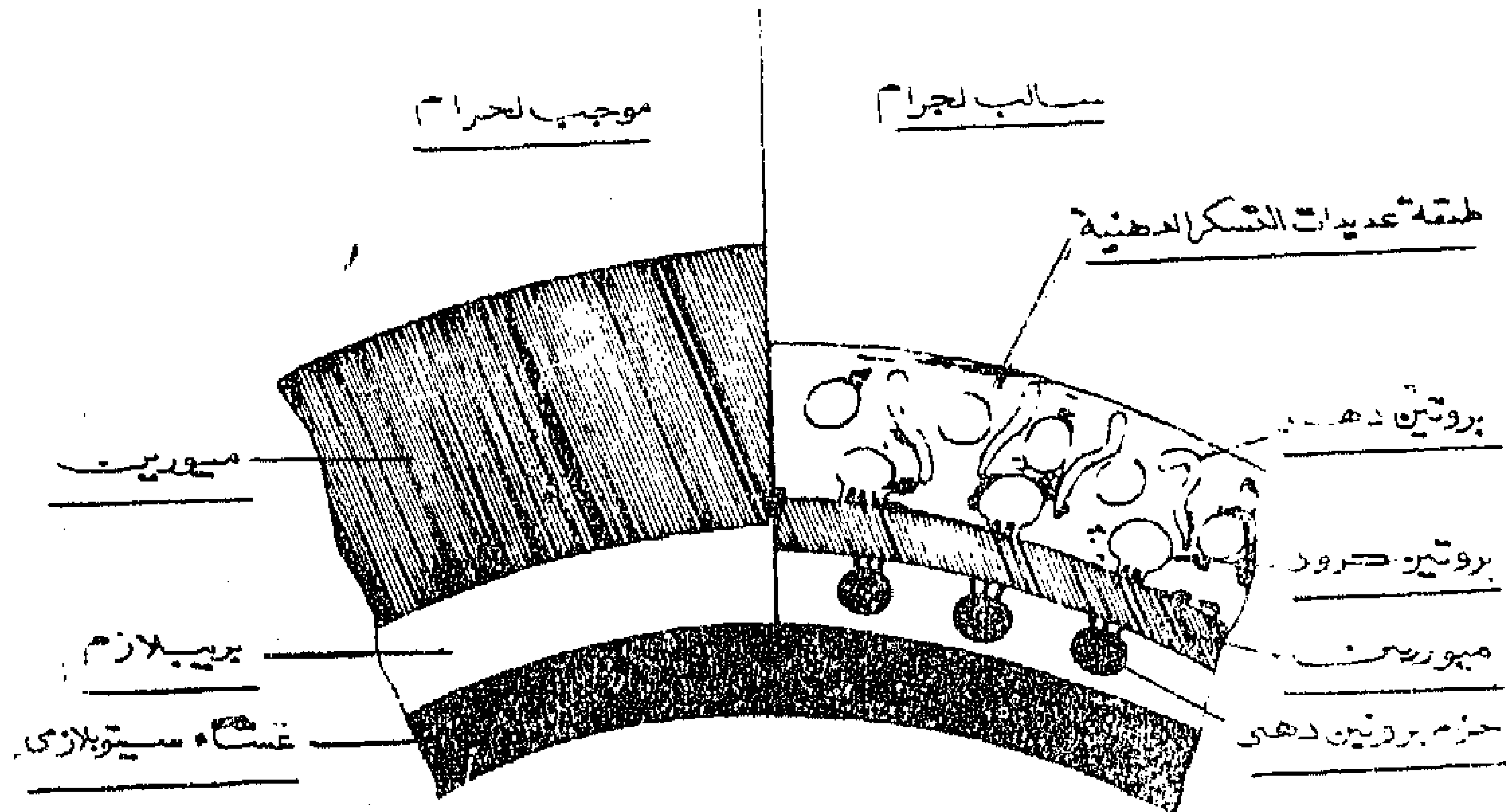
أ — البكتيريا الموجبة لجرام

معظم الجدر الخلوية للبكتيريات لصبغة جرام عبارة عن طبقات من

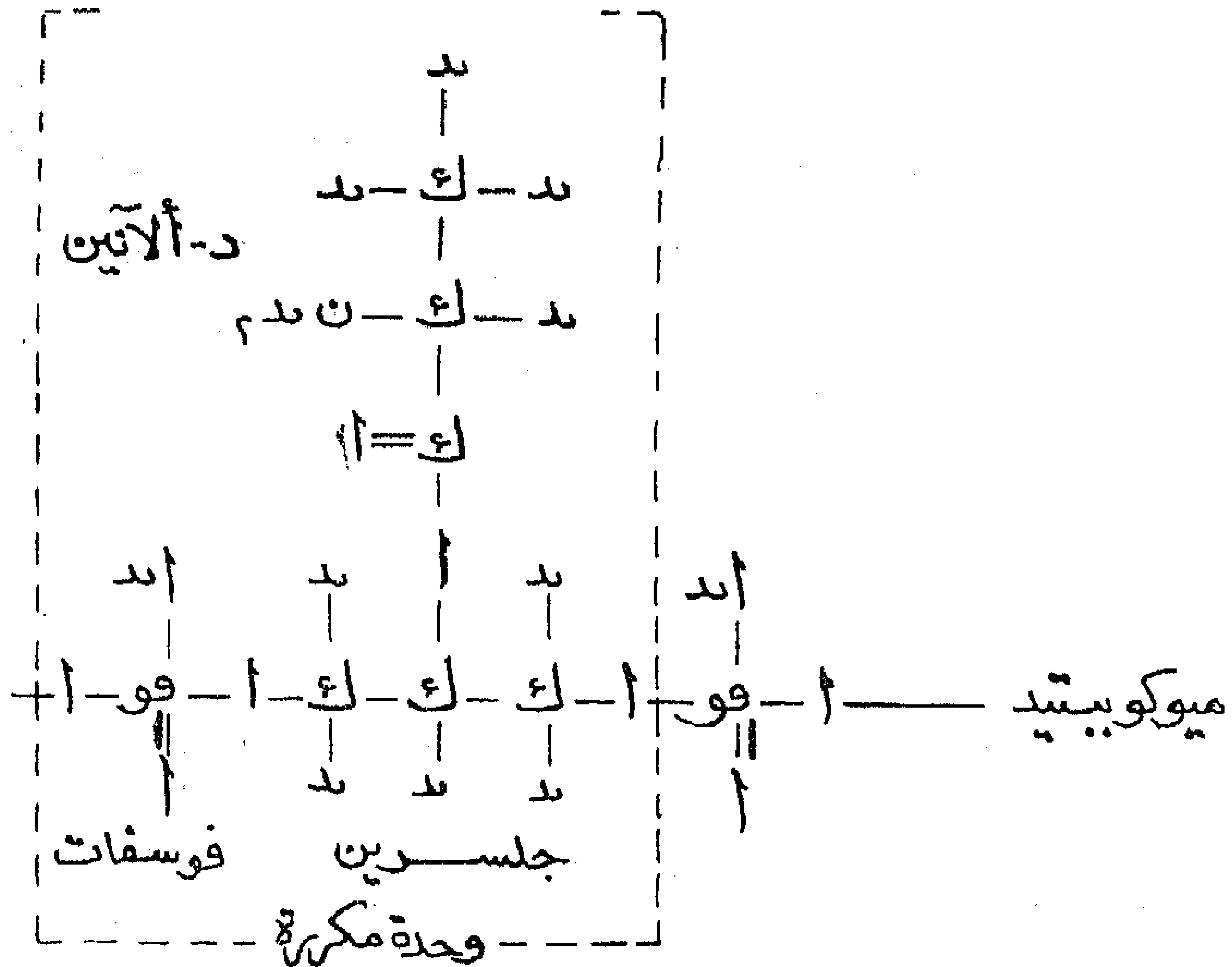
الميوكوببتيد (الميورين) وتتصل كل طبقة بالتى أعلى منها والتى أسفل أسفل منهـا بواسطة سلاسل قصيرة من عديدات الببتيد وبذلك يتكون تركيب قوى وصلب . وقد لوحظ أن طبقات الميورين أو الميوكوببتيد فى البكتيريا الموجبة لجرام متجـانسة وعادة أكثر سمكا من طبقـات الميورين المكونة للبكتيريات السالبة لجرام (شكل ١٨) . وعادة لاتحتوى جدر البكتيريات الموجبـة لجرام على طبقات من البروتينات الدهنيـة lispoproteins أو عديدات التسكر الدهنية Lipopolysaccharides إلا أن معظم جدر البكتيريات الموجبة لجرام تحتوى على مركب إضافى هـو حمض التشويك Teichoic acid .

وهو عبارة عن تكرار لوحدات من الجليسرول مرتبطة بال د ـ الانين D - alanine والفوسفات (شكل ١٩) وقـد يتكون أيضاً من تكرار وحدات من الريبيتول Ribitol ترتبط مع الجلوكوز و د ـ الانين . وحمض التشويك Teichoic acid يرتبط بروابط تعاونية covalent bonds مع طبقات الميورين سالفة الذكر . ويعتبر حمض التشويك عامل غير مهم لصلابة الجدار الخلوى البكتيرى وقد أظهرت نتائج فحص قطاعات رقيقة من الجدر الخلوية للبكتيريات الموجبة لجرام بالميكروسكوب الالكترونى عدم وجود طبقة منفصلة من هذا الحمض وعلى ذلك فإن هذا الحمض يكون داخلا فى تركيب طبقات الميورين المكونة للجدار وليس منفصلا عنها .

وعندما يحدث نمو غير متوازن فى البكتيريا الموجبة لجرام عن طريق استعمال مواد مثبطة لتخليق البروتين ، فإن بناء الجدار سوف يستمر على معدل عال إلا أن الانقسام قد يكون نادرا وبذلك فإن الجدر ستصبح أكثر سمكا مع الوقت .



شكل ١٨ : رسم تخطيطى لقطاع فى الجدار الخلوى لبكتيريا سالبة لجرام وأخرى موجبة لجرام مبينا الفروق الأساسية فى تركيب الجدار الخلوى (عن Levy et al. 1973)

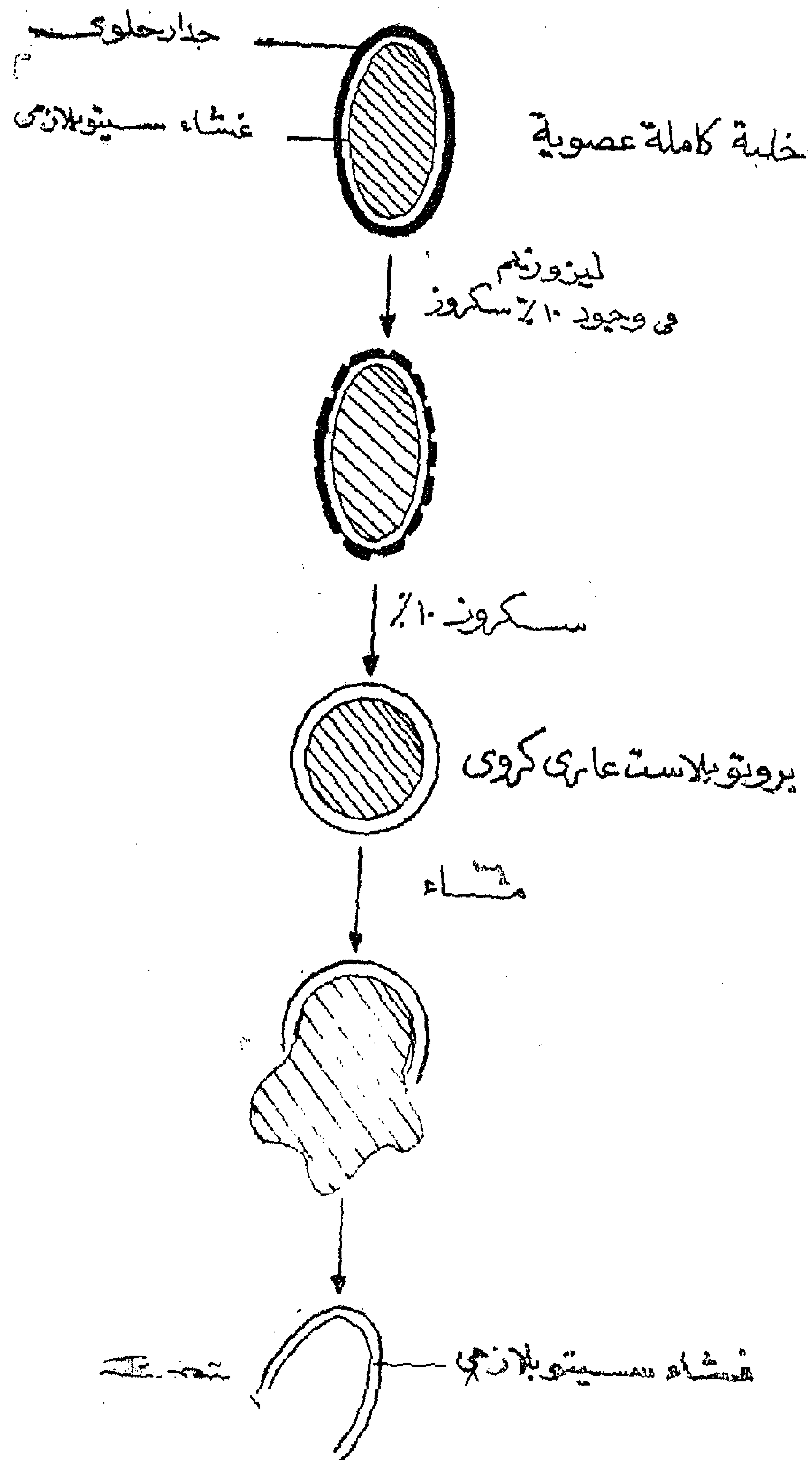


شكل ١٩ : التركيب الكيماوى للوحدة التى يتكون منها حمض التشويك Teichoic acid:

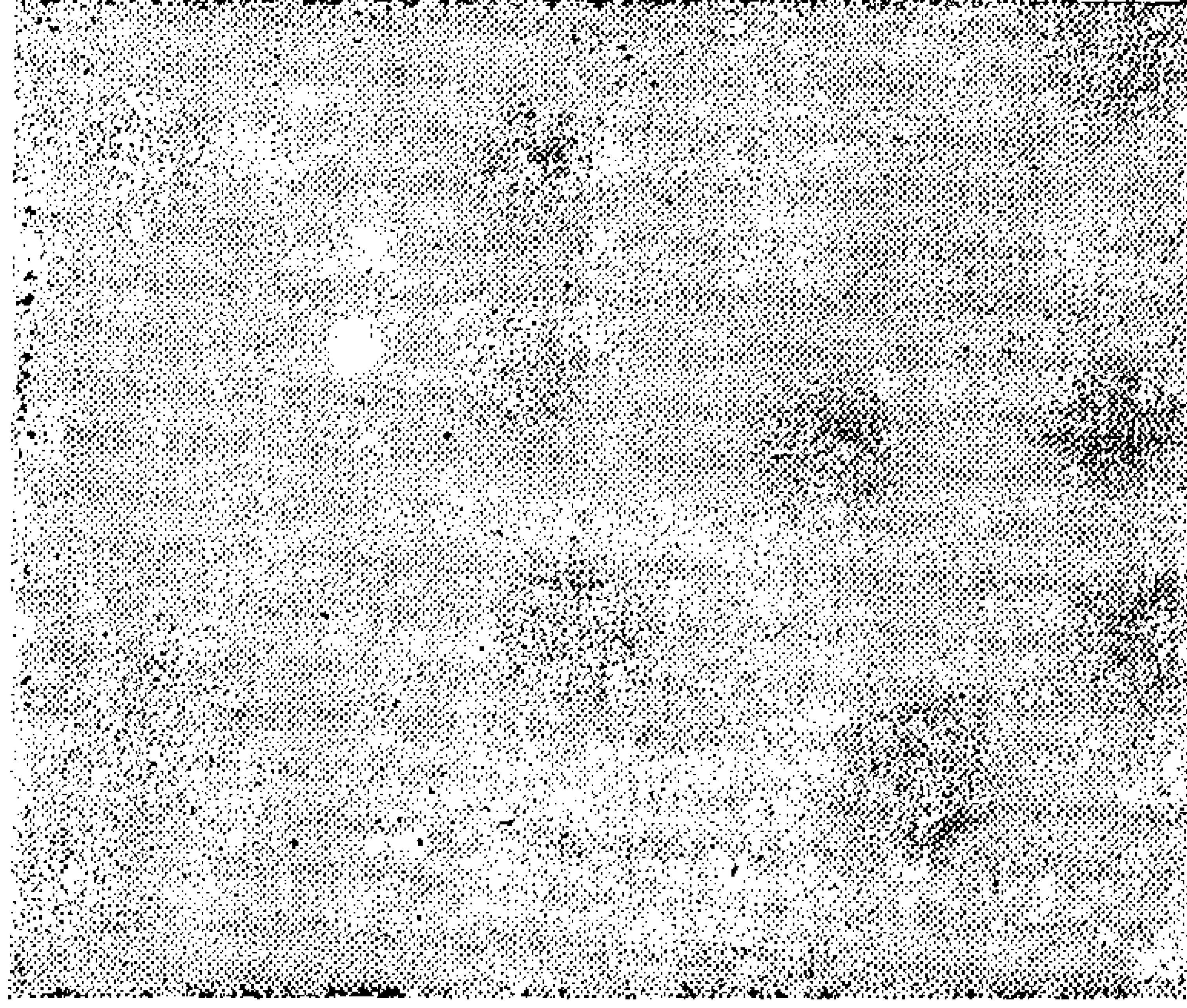
وهناك انزيم يمكن تحضيره من بياض البيض يعرف باسم الليزوزيم lysozyme يحلل الرابطة بيتا ١ ـ ٤ (β 1 — 4) التى تربط بين الاسيتايل جلوكوز أمين وحمض الاسيتايل ميوارميك (شكل ١٥) . وأن بكتيريا مثل *Bacillus megaterium* ، يمكن لجدرها أن تتحلل lyses بواسطة هذا الانزيم إذا ما حفظت الخلايا فى بيئة ذات ضغط أسموزى مرتفع hipertonic medium ، فتحت هذه الظروف يظهر البرتوبلاستات الخاصة بهذه البكتيريا نتيجة لإذابة الجدر الخلويه حيث يظل السيتوبلازم بها محاطا بالغشاء البروتوبلازمى أو البروتوبلاستى ويكون له شكل كروى حيث يعرف أيضاً باسم Spheroplast (شكل ٢٠ وشكل ٢١) ويبدو أن هذه الأجسام قادرة على عمليات البناء الحيوى ويمكنها أن تنقسم ولكن لا ينفصل ناتج الانقسام حيث أنها لا تستطيع تكوين الجدار الخلوى . وهذا يوضح مدى أهمية الجدار لانقسام البكتيريا .

ب ـ البكتيريا السالبة لجرام .

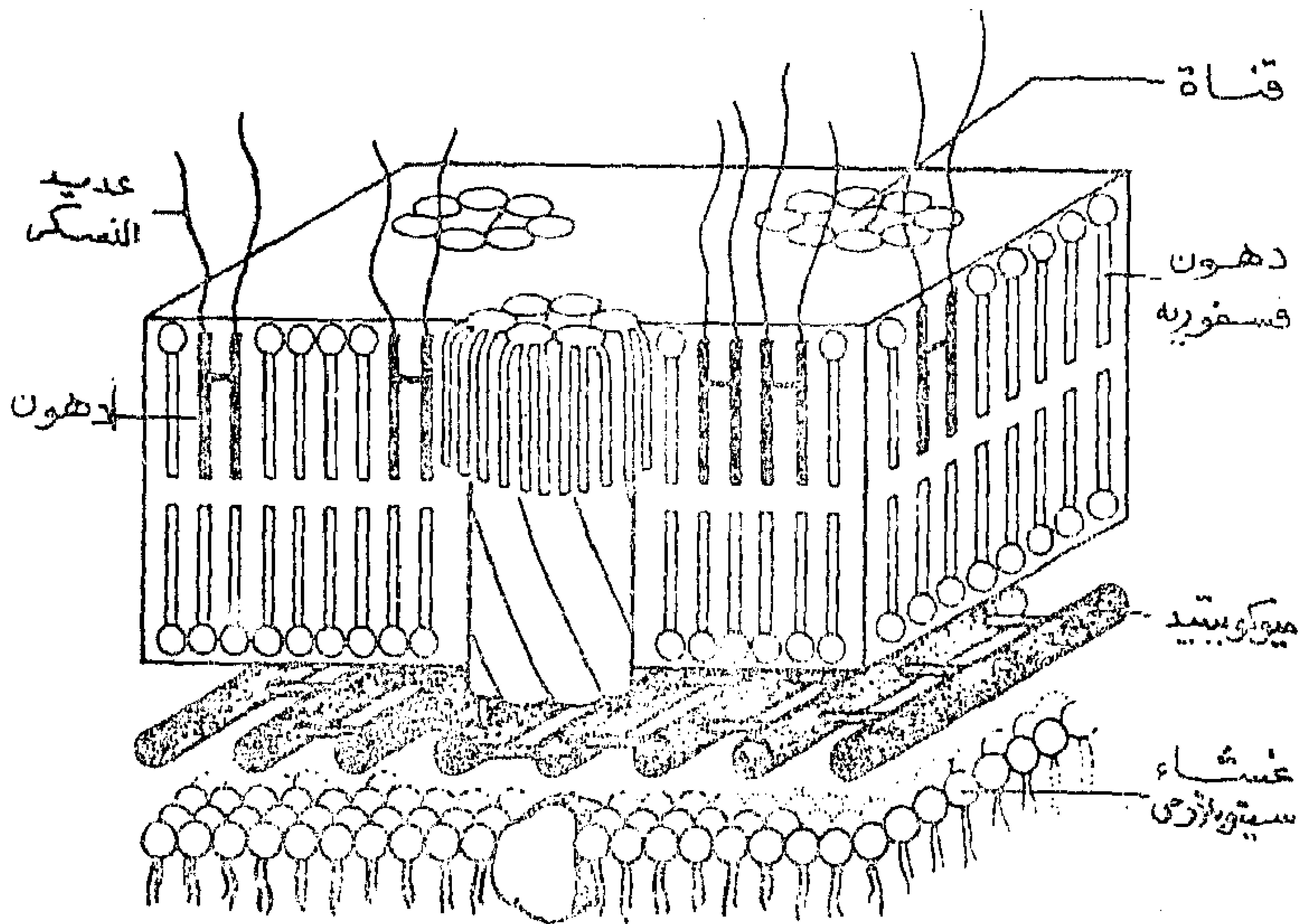
يحتوى الجدار الخلوى فى البكتيريات السالبة لجرام على طبقة واحدة من مادة الميورين (الميوكوببتيد) فهى بذلك أقل سمكا من تلك الموجودة فى جدر البكتيريات الموجبة لجرام لذلك يسهل تحطيم جدر الخلايا السالبه لجرام عند استعمال الطرق الميكانيكية لتكسير الجدر الخلوية عنها فى حالة جدر الخلايا الموجبة لجرام (شكل ١٨ وشكل ٢٢) . كما أن مادة الميورين هذه تمثل ١٠ ٪ فقط من الوزن الجاف للجدار الخلوى فى الخلايا السالبة لجرام والنوع البكتيرى السالب لجرام والذى وجد أنه يحتوى على حمض techoic acid هى البكتيريا *Escherichia coli* — B . والكائنات البكتيريه السالبه لجرام تحتوى علاوة على ما تقدم على طبقه من البروتينات الدهنيه Lipoprotein وعديدات التسكر الدهنيه Lipopolysaccharide



شكل ٢٠ : خطوات الحصول على بروتوبلاست عارى ثم طبقة الغشاء السيتوبلازمى .



شكل ٢١ : البروتوبلاستات العارية ذات الشكل الكروى للبكتيريا العصوية *Bacillus megaterium* الناتجة عن تحلل الجدار الخلوى (× ٣٠٠٠) (عن Burrows 1973)



شكل ٢٢ : رسم تخطيطى يبين التصور الحالى لتركيب الجدار الخلوى فى البكتيريا السالبة لجرام (عن Nester et al 1978)

ودهون فوسفورية phospholipids تحيط بطبقة الميورين الرقيقة. وطبقة عديدات التسكر الدهنية تغطى كل طبقة الميورين ويلاحظ ان هذا التركيب يحتاج الى ايونات الكالسيوم كا++ لكى يظل ثابتا ومن هنا كانت إضافة المواد ذات الصفات ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) مثل chelating agentsتأثيرا ضارا بهذه الطبقة.والبروتين الدهنى Lipoproteinفى الجدار الخلوى للبكتيريا السالبة لجرام لايعطى أى قوة لجدرها الخلوية وقد لايكون فى صورة طبقة ولكنه يوجد فى صورة مجموعة من الأنابيب الصغيرة تنتشر خلال طبقة عديدات التسكر الدهنية . وان طبقة البروتينات الدهنية لا ترتبط بروابط تعاونية covalent bonds مع الميورين او مع عديدات التسكر الدهنية ولكنها ترتبط بروابط هيدروجينية ضعيفة . وطبقة البروتينات الدهنية يمكن ازالتها بسهولة من الخلية بواسطة محلول ٩٠٪ من الفينول البارد حيث انها تذوب فى هذا المحلول كما ان عديدات التسكر الدهنية يمكن ازالتها ايضا بهذه المعاملة ولكنها تظل غير ذائبة .

وجدر البكتيريا السالبة لجرام تعتبر غير حساسة لفعل الليزوزايم وقد يرجع ذلك الى أن طبقة الميورين تكون محمية بطبقة من عديدات التسكر الدهنية والبروتينات الدهنية . وقد تصبح الخلايا حساسه لليزوزايم إذا عوملت بالعوامل المخلبة مثل EDTA او بواسطة تعريض الخلايا الى التجميد والأساله المتوالى .

وفى بعض الأحيان عندما يحدث نمو غير متوازن فى البكتيريا السالبة لجرام عن طريق استعمال مواد مثبطة لتخليق البروتين ، فان الخلايا سوف تخلق كميات كبيرة من عديدات التسكر الدهنية والتى سوف تظهر بشكل نموات زائدة أو بثرات تعرف باسم blebs تشاهد على السطح الخارجى للخلية معطية لها مظهرا غير منتظم .

وقد لوحظ في كثير من البحوث أن لطبقة عديدات التسكر الدهنية لبعض البكتيريات درجة واضحة من السمية تتأثر بها خلايا العائل ، فان كثيرا من البكتيريا الممرضة للانسان والنبات والسالبة لجرام تنتج مواد عبارة عن عديدات تسكر دهنية تعتبر سامة لجسم العائل، وبذلك يمكنها احداث المرض . ولوحظ أيضا أن تحضيرات نقية من عديدات التسكر الدهنية معزولة من بكتيريات سالبة لجرام وممرضة يمكن ان تسبب نفس الاعراض المميزة للعدوى التي تنتج عن الخلية الكاملة .

ويعتقد الآن أن الجزء الدهني من عديدات التسكر الدهنية هو الحامل للسمية ويعتبر من السميات الداخلية endotoxins . وجدول ٣ يبين بعض الصفات الهامة وبعض الفروق الاساسية بين الجدر الخلوية فى البكتيريا السالبة والموجبة لجرام .

غياب الجدار الخلوى

بعض الكائنات الدقيقة قد لا تمتلك جدارا خلويا فمن المعروف أن مجموعة من الكائنات الدقيقة التى تسمى الميكوبلازمات Mycoplasma أو الكائنات الشبيهة بها والتى تتميز خلاياها بغياب الجدر الخلوية فهى تنمو ببطء وتحتاج الى بيئات غذائية خاصة تحتوى على ٢٠٪ من سيرم الدم . وبعض الميكوبلازمات تحتاج أيضا الى ستيرولات sterols فى بيئة الزرع وهذه الاستيرولات تدخل فى تركيب الغشاء السيتوبلازمى ويبدو ان الاستيرولات تقوم بعمل توازن وثبات وحفظ الغشاء السيتوبلازمى بطريقة غير معروفة لتمنع تحللها وفسادها .

وهناك مجموعة أخرى من الكائنات البكتيرية يطلق عليها الـ L. form bacteria وهى كائنات تشبه الميكوبلازمات فى عدم وجود جدر خلوية لخلاياها وقد سميت بذلك الاسم نسبة إلى معهد ليستر Lister Institute

جدول ٣ : الفروق الأساسيه بين الجدر الخلوية فى البكتيريا السالبة والموجبة لجرام

الصفة	الموجبه لجرام	السالبة لجرام
التحلل بواسطة الليزوزيم	+	فقط بعد معاملات خاصة
عدد طبقات الجدار	١	٢
سمك الجدار	٢٠ – ٨٠ nm	١٠nm
محتوى الجدار من الدهون	صفر – ٣٪	١١–٢٢٪
محتوى الجدار من السكريات الأمينية	١٠–٢٢٪	٢–٨٪
الميوكوببتيد	+	+
Teichoic acid	+	∓ (*E. coli*)
وجود أنواع متعدده من الأحماض الأمينية	—	+
Lipopolysaccharide	—	+
Lipoprotein	—	+

بلندن والتى وصفت فيه هذه الكائنات لاول مرة فى ١٩٣٥ . وهذه عبارة عن بكتيريا سواء سالبة أو موجبة لجرام فقدت القدرة على بناء الميورين فى الجدار الخلوى سواء من الناحية الكمية أو النوعية . وفقدان هذه القدرة (أعنى القدرة على تخليق الميورين) يمكن ان تحدث تلقائيا داخل جسم العائل او خارج جسم العائل فى بعض الحالات الاخرى، ويلاحظ أن بعض البكتيريا العارية من الجدار تفشل فى تخليق الميورين ولكنها تستمر فى تخليق عديدات التسكر الدهنية والبروتينات الدهنية . ومثل هذه الكائنات التى لا تحتوى على جدار صلب تشترك فى مجموعة من الصفات العامة فهى لا تتميز بشكل خلوى خاص

وهى بذلك خلايا رهيفه fragile تميل الى التكاثر ببطء وهى تعتبر مقاومة للمضادات الحيوية ، التى تؤدى فعلها عن طريق التدخل فى عملية بناء الجدار الخلوى مثل مجموعة البنسلين والباسترين Penicillin — Bacitracin group.

ومن المعروف أن البنسلين يؤثر على البكتيريا عن طريق التدخل فى عمليات تخليق الجدار الخلوى وخاصة طبقة الميورين وغالبا فان البنسلين يكون فعالا ضد البكتيريا الموجبة لجرام الغنية بطبقات الميورين عن البكتيريات السالبة لجرام (مع وجود حالات تشذ عن ذلك) ويبدو ان ذلك يرجع أيضا الى وجود طبقة عديدات التسكر الدهنية والبروتينات الدهنية والتى تحيط بطبقة الميورين فى جدر الخلايا السالبة لجرام والتى تمنع البنسلين من الوصول الى موقع تأثيره وهو طبقة الميورين .

١ — ثانيا : البروتوبلاست Protoplast

ان كل ما يقع بداخل الجدار الخلوى يعرف باسم البروتوبلاست وكما سبق أن بينا أنه يمكن عزل البروتوبلاست سليما وهو يشمل الاتى :

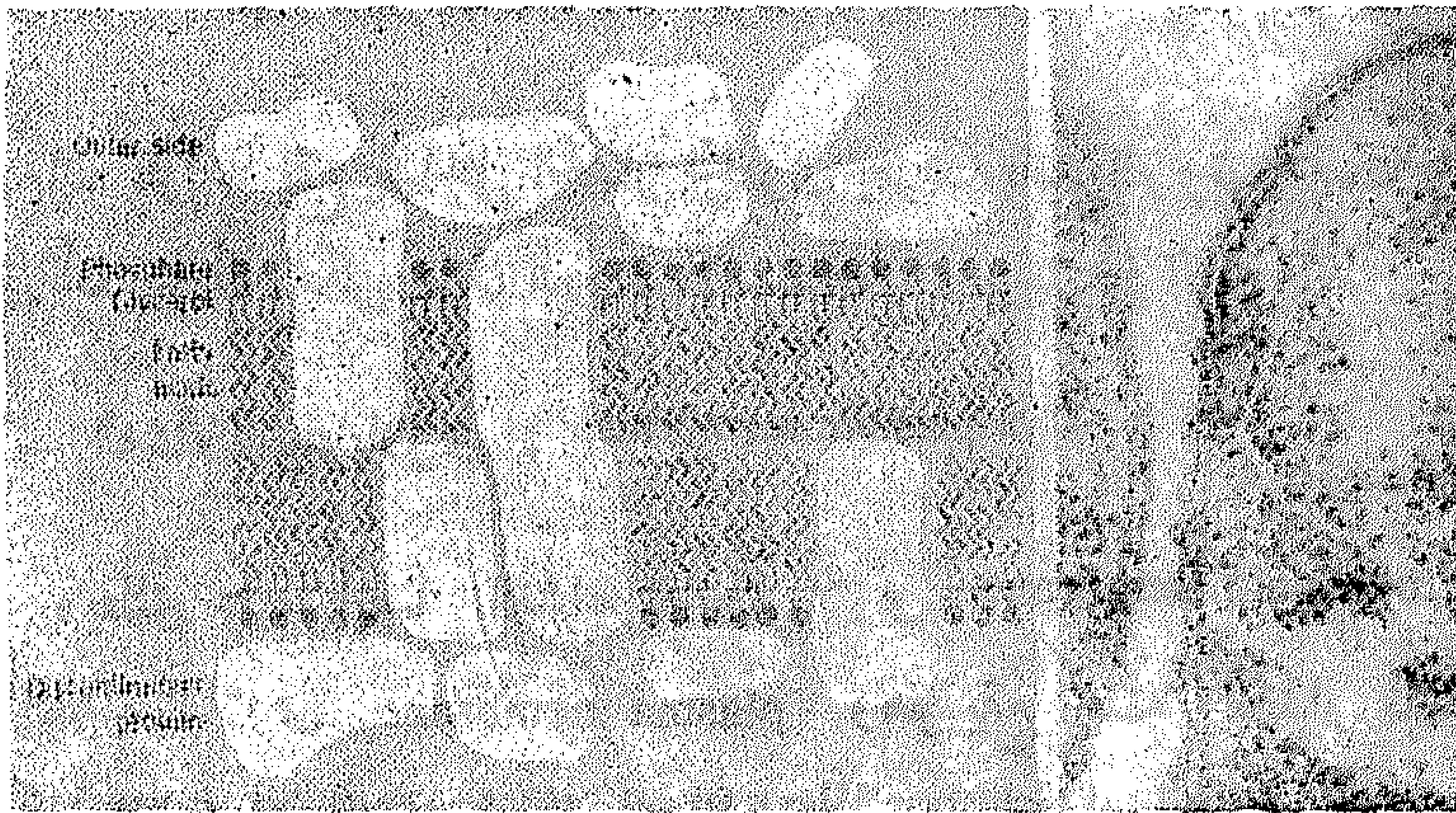
١ — الغشاء السيتوبلازمى : Cytoplasmic membrane

ويطلق عليه أيضا الغشاء البروتوبلازمى Protoplasmic membrane أو الغشاء البلازمى plasma membrane وهو يقع تحت الجدار مباشرة (شكل ٢٣) الا انه قد توجد احيانا منطقة بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى تسمى بريبلازم periplasm . ويقدر سمك الغشاء السيتوبلازمى بحوالى ٥ nm ولا يشاهد بطرق الصبغ العادية ولكن يمكن إثبات وجوده إما عن طريق جعل المحتويات الخلوية تنكمش بعيدا عن الجدار ، او باستعمال طرق صبغ خاصة و كذلك باستعمال الميكروسكوب الالكترونى .

معظم الأغشية السيتوبلازمية المعزولة من البكتيريا تحتوى على ٦٠٪

بروتين و ٤٠٪ دهون تقريبا ومعظمها من الدهون الفوسفورية phospholipids ويمثل الغشاء السيتوبلازمى عادة ١٠٪ من الوزن الجاف للخلية .

الأغشية السيتوبلازمية سواء المعزولة من خلايا كائنات ذات نواه بدائية أو نواة حقيقية تتشابه كثيرا عند فحصها بالميكروسكوب الالكترونى . فهى عبارة عن طبقتين غامقتين تفصلها طبقة خفيفة . وأن كثيرا من خواص هذه الأغشية تعتمد على وجود الفوسفوليبيدات فانها قابلة للذوبان فى الاطراف التى تحتوى على مجموعة الفوسفات وتكون غير قابلة للذوبان فى الماء خلال بقية الجزىء والذى يتكون معظمه من ذرات من الكربون والايدروجين وعلى ذلك فان كل المجاميع المحملة بالشحنات تكون بارزة للخارج وان المجاميع غير القابلة للذوبان فى الماء تكون بالداخل (شكل ٢٣) .



شكل ٢٣ : إلى اليمين : صورة إلكترونميكروسكوبية لقطاع رقيق جدا فى خلية بكتيرية توضح الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى .

إلى اليسار : رسم تخطيطى لتركيب الغشاء السيتوبلازمى . لاحظ أنه يتكون من بروتين غير متصل : Discontinuous protein وجليسرين glycerol وفوسفات Phosphate وأحماض دهنية fatty acids . (عن (Levey et al., 1973)

ونظرا لأن الأغشية المختلفة تقوم بوظائف فسيولوجية مختلفة ، فإنه يفترض وجود اختلافات بين الأغشية الأمر الذى يبرر قيامها بهذه الوظائف المختلفة. وهذه الاختلافات قد تحدث فى جزيئات البروتين والتى توجد مطمورة فى طبقتى الفوسفوليبدات .

وفى بعض الأحيان تظهر طبقات متعدده بالغشاء السيتوبلازمى بدرجة كبيرة فى البكتيريا التى تقوم بالتمثيل الضوئى أو التى تولد الطاقة على معدل مرتفع . هذه الطبقات تمد الكائن بسطح كبير جدا يسمح بنشاط انزيمى كبير .

والغشاء السيتوبلازمى يعتبر غشاء شبه منفذ Semipermeable وعادة يمكن للمواد ذات الوزن الجزيئى القليل نسبيا المرور خلاله الى داخل الخلية وعادة يفسر دخول المواد الى الخلية بالطريقتين التاليتين :

ا — الانتشار السلبى Passive diffusion : وفى هذه الطريقة فان انتشار الجزيئات من وإلى الخلية يستمر بحرية حسب تركيزها خارج او داخل الخلية دون ان تبذل الخلية طاقة فى ذلك ويستمر الانتشار حتى يحدث توازن بين تركيز جزيئات مادة ما بداخل وخارج الغشاء .

ب — النقل النشط active transport : تبذل الخلية طاقة معينة لنقل الجزيئات الى داخل او الى خارج الخلية . وعموما فان الخلية تنقل الجزيئات بدرجة اكبر الى الداخل عن ما يخرج منها الى الخارج وتكون النتيجة النهائية تراكم الجزيئات بداخل الخلية . وفى حالة النقل النشط فان تركيز مادة غذائية معينة يزداد بدرجة كبيرة بداخل الخلية عنه فى خارج الخلية وذلك لأن الخلية تبذل طاقة للاحتفاظ بالتركيز المرتفع بداخلها . ويوجد نظام انزيمى وظيفته نقل المواد الغذائية الى داخل الخلية ويسمى نظام النفاذية permease فى الاغشية السيتوبلازمية ويبدو أن هذا النظام يتكون من عدد من الإنزيمات المصاحبة للمحتوى البروتينى فى الغشاء ، وهذه الانزيمات تساعد فى سلسلة

من التفاعلات المتتالية ، وأن بعض هذه التفاعلات قد يحتاج الى الطاقة والبعض الآخر لا يحتاجها . وغالبا توجد انزيمات نفاذية متخصصة بكل مادة غذائية ، فمثلا هناك إنزيمات نفاذية متخصصة فى نقل الجلوكوز وهذه تختلف عن انزيمات النفاذية التى تنقل اللاكتوز وفى بعض الأحيان فان انزيمات النفاذية الخاصة بالمادة الواحدة يمكنها ان تنقل عديد من المركبات ذات التركيب الكيماوى المتشابه .

ونظرا لأن البكتيريا تعيش فى ظروف يكون تركيز كثير من المواد الغذائية التى تحتاجها منخفضا فان الانتشار الحر لن يكون كافيا لامداد الخلية بالاحتياجات الغذائية التى تسمح بنمو سريع ، وعلى ذلك فالبكتيريا تتبع نظام النقل النشط تحت هذه الظروف لنقل وتكديس كثير من المواد الغذائية بداخلها .

وللبكتيريا وسائلها لاستعمال المركبات ذات الوزن الجزيئى الكبير والتى توجد فى كثير من الأحيان فى الوسط الذى تعيش فيه ومن الواضح أن جزيئات هذه المواد لا تستطيع الدخول خلال الجدار الخلوى أو الغشاء السيتوبلازمى . لذلك فمعظم البكتيريا تفرز انزيمات خارج جسمها لها القدرة على هدم هذه الجزيئات الكبيرة الى وحدات صغيرة والتى يمكن أن تنقل الى داخل الخلية بالاستعانة بأنواع معينة من انزيمات النفاذية . ومن أمثلة هذه المواد جزيئات البروتين فهى تهدم أولا الى احماض امينية بواسطة الانزيمات المحللة للبروتين . وكذلك جزيئات عديدات التسكر التى تهدمها الانزيمات الى الوحدات الاساسية التى تتكون منها (سكريات أحادية) . وكثير من هذه الانزيمات تفرزها الخلية وتنقل الى خارج الخلية ثم تحدث التفاعل فى البيئة وتسمى انزيمات خارجية extracellular enzymes

وفى بعض الأحيان فان هذه الانزيمات توجد فى الفراغ البريبلازمى periplasmic space بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى وبذلك

فان الجزيئات الكبيرة تمر خلال ثقوب pores فى الجدار (شكل ٢٢) وتصبح ملامسة لهذه الانزيمات فى الفراغ البريبلازمى حيث تتكسر الى جزيئات صغيرة ثم تنقل بعد ذلك خلال الغشاء السيتوبلازمى بفعل انزيمات النفاذية .

وعلى ذلك فالغشاء السيتوبلازمى غشاء شبه منفذ semipermeable له نفاذية اختيارية selective membrane يتحكم فى مرور المواد الغذائية وكذلك نواتج النمو للخارج . وان أى ضرر لهذا الغشاء قد يؤدى الى موت الخلية حتى ولو كان التغيير المرفولوجى فى الغشاء لا يمكن الاستدلال عليه او التحقق من وجوده ميكروسكوبيا . وعندما يحدث تغيير فى الغشاء يفقد بذلك القدرة على التحكم فى مرور المواد ويرتبك النظام الفسيولوجى للخلية نتيجة لفقد كثير من المواد الحيوية والى دخول بعض المواد السامة . وقد لوحظ زيادة بعض الانشطة الانزيمية فى تحضيرات من الاغشية السيتوبلازمية عنها فى باقى أجزاء البروتوبلازم مثل نظام السيتوكروم Cytochrome system ، وعديد من الانزيمات المزيلة للايدروجين Dehydrogenases وذلك فان تفاعلات الأكسدة البيولوجية بالخلية تتمركز فى هذه الاغشية هذا علاوة على أن بعض الانزيمات المسئولة عن تحطيم المواد الغذائية قد تكون مصاحبة أيضا لهذه الاغشية .

كما لوحظ ايضا أن من أهم الوظائف للغشاء السيتوبلازمى تخليق الجدار الخلوى حيث يحتوى على كل الانزيمات المسئولة عن ذلك كما توجد بعض الأدلة على أن بالغشاء السيتوبلازمى بعض المواقع المعينة تلعب دورا هاما فى انقسام الخلية ، فقد لوحظ ان بعض الطفرات البكتيرية التى تفقد القدرة على تخليق بروتين معين فى الغشاء السيتوبلازمى تفشل دائما فى الانقسام .

٢ — الميزوسومات Mesosomes

عبارة عن تركيبات غشائية يطلق عليها عدة أسماء أخرى منها peripheral

bodies أو Chondrioides وتوجد فى معظم البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وقليل من البكتيريات السالبة لصبغة جرام والأغشية المحيطة بهذه التركيبات غالبا امتدادات من الغشاء البروتوبلاستى وليست أغشية مستقلة (شكل ١٠) . وتوجد هذه الاجسام فى البكتيريات الموجبة لصبغة جرام بالقرب من المنطقة النووية أو عند مكان إنقسام الخلية . وإذا وجدت هذه التركيبات فى البكتيريا السالبة لجرام فانها تكون غير واضحة . ويعتقد أن الوظائف أو الوظيفه التى تقوم بها هذه التركيبات للخلية تكون واحدة أو اكثر مما يلى :

١ – تعمل كموضع لتنفس الخلية وانتاج الطاقة .

٢ – لها دور خاص فى تكوين الجدار العرضى فى البكتيريا الموجبة لجرام .

٣ – تعمل كمركز للتحكم فى الانقسام الخلوى المنظم .

ولا توجد أدلة قاطعة على التأكد من أن احد هذه الوظائف أو جميعها هى التى تؤديها للخلية الا ان وجودها بالقرب من المنطقة النووية أو عند مكان انقسام الخلية قد يدل على ان تكوين الحاجز العرضى يعتمد على وجود الميزوسومات Mesosomes . وقد ذكر بعض الباحثون ان الـ DNA فى الجسم النووى يبدو وانه مرتبط بالميزوسومات . مما يؤيد أنها تلعب دورا فعالا فى انفصال الـ DNA من الخلية الأم الى كل من الخليتين الناتجتين عن الانفلاق .

كما توجد أيضا بعض الأدلة على أنها مكان لتنفس الخلية وذلك لقدرتها على ترسيب مادة الفورمازانز Formasans وهو الحالة المختزلة لمركبات التيترازوليم Tetrazolium عندما يضاف المركب الاخير للخلية وهى بذلك تشبه الميتوكوندريا التى تتميز بترسيب هذه المواد عند إضافة التترازوليم الى الخلايا المحتوية على ميتوكوندريا .

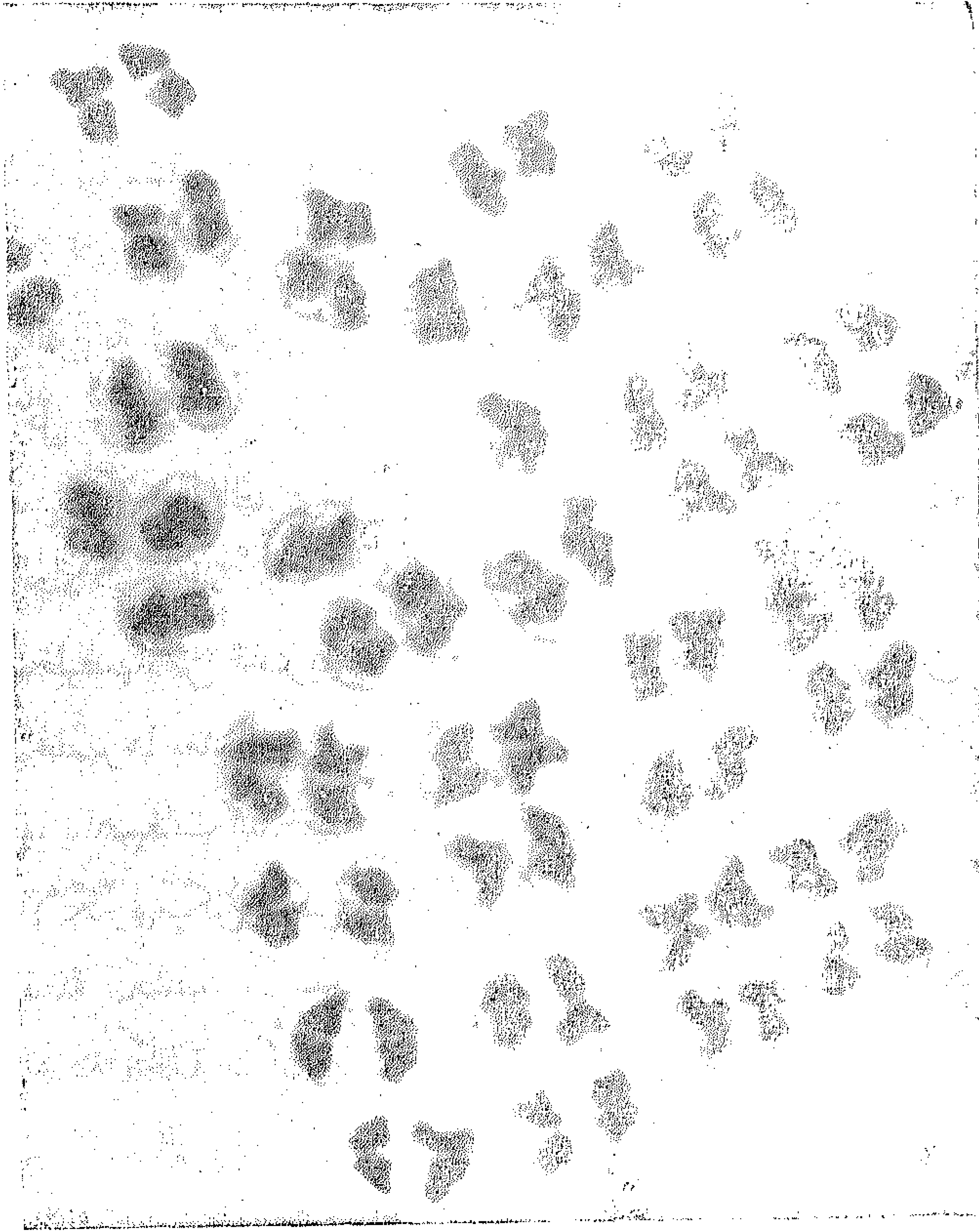
٣ — الأجسام الكروماتينية أو النواة فى البكتيريا

Chromatin bodies, chromatinic bodies, Bacterial nuclei

إن امكانية مشاهدة الجهاز الوراثى بالخلية البكتيرية اصبح الآن من الامور السهلة بعد ان كان من المتعذر فى الماضى . وكان مما يزيد صعوبة تمييز الأجسام النووية فى خلايا البكتيريا فى الماضى هو الاعتقاد بضرورة وجود النواة داخل حدود معلومة كما هو الحال فى خلايا النباتات والحيوانات . وقد تمكن بعض الباحثون القدامى من صبغ الا DNAفى الاجسام النووية ومشاهدته وهو فى حالات مختلفة من الانقسام (شكل ٢٤) بعد معاملة الخلايا معاملات خاصة لتخليصها من المحتويات النووية الاخرى مثل الا RNA والتى كانت تختلط فى مظهرها بعد الصبغ مع الاجسام النووية . ثم بعد ذلك يمكن مشاهدتها بعد صبغها بالصبغات المتخصصة لصبغ الاDNAمثل صبغة Feulgen . وفى الصور الالكتروميكروسكوبية يمكن أن تظهر الأجسام النووية كمنطقة شفافة (قليلة الكثافة) لها شكل غير منتظم خلال السيتوبلازم (شكل ١٠) وتحتوى عادة الخلية البكتيرية فى مرحلة النمو على واحد او اكثر من هذه التجمعات للمادة النووية . وعدد هذه التجمعات النووية يعتمد على معدل النمو وعلى النوع ، ففى بعض الانواع تابعة للجنس *Bacillus* قد تحتوى على ٧ مناطق نووية منفصلة .

ووجد أن التركيب الاساسى الذى يحتوى على المعلومات الوراثية فى خلية البكتيريا عبارة عن شريط مزدوج من الا DNAغير محاط بجدار يفصلة عن السيتوبلازم وأن هذا الجزئ الطولى المفرد من الا DNA يلتف حول نفسه ليكون حلقة مقفلة يعرف بالكروموسوم الدائرى circular chromosome وأن كمية المعلومات المحمولة على الكروموسوم تتناسب مباشرة مع طوله ، فمثلا فى كائن بسيط مثل *Mycoplasma hominis* فهو يحتوى على كروموسوم طوله ٢٦٥µm* * فى حين انه فى كائن اكثر تعقيدا مثل الا *E. coli* فإن طول الكروسوسوم يصل الى ١١٠٠µm. أى قدر طول الخلية ١٠٠٠

* micrometer µm = ١٠—٦ متر .



شكل٢٤ : صورةميكروسكوبية لخلايا البكتيرياالكروية *Micrococcus radiodursrans*
تبين الخلايا فى مراحل الإنقسام الخلوى مع ملاحظة إنقسام محتوياتها النووية المصبوغة
(عن Klieneberger -Nobel 1965)

مرة تقريبا . وهذا الكروموسوم الملتف يشغل تقريبا ١٠٪ من حجم الخلية . ويعتقد أن محتويات الكروموسوم البكتيرى من الجينات تمثل وحدة عبورية مفردة .

وكما ذكرنا قد تشاهد بداخل الخلية الواحدة أكثر من وحدة دائرية أو كروموسوم دائرى واحد نتيجة لتكراره. وقد يمكن صبغ هذه الكروموسومات حيث يمكن مشاهدتها بأشكال مختلفة مثل Y أو V أو 8 . مما تقدم يلاحظ أن

المحتويات النووية البكتيرية لا يمكن أن تتساوى بأى حال من الأحوال بكروموسومات الكائنات الأرقى حيث انها تنقسم مباشرة دون المرور فى الاطوار المعروفة للانقسام غير المباشر . Mitosis او الانقسام الاختزالى Meiosis . هذا وتركيب الـ DNA البكتيرى قد يختلف من بكتيريا الى اخرى فقد لوحظ ان نسبة الجوانين Guanine (G) + السيتوزين Cytosine(C) فى الـ DNA تعتبر صفه ثابتة للنوع البكتيرى وانها تتراوح بين ٢٢٪ فى بعض الكائنات مثل الميكوبلازما والبكتيريا غير الهوائية الى ٧٤٪ كما فى بعض البكتيريا الهوائية إجبارا .

٤ — الإيبيسومات والبلازميدات Episomes and Plasmids

يطلق اصطلاح الايبيسومومات على تركيبات هى عبارة عن أجزاء من الـ DNA والتى توجد فى الخلية البكتيرية خارج الكروموسوم البكتيرى extrachromosomal DNA وهـذه تكون قادرة على تكرار نفسها مستقلة فى ذلك عن تكرار الكروموسوم البكتيرى . وفى بعض الاحيان قد تتصل بالكروموسومات وفى هذه الحالة لا تتكرر الا عند حدوث تكرار للكروموسوم نفسه . ويصل حجم هذه التركيبات أو الأجزاء من الـ DNA الى ١٠٪ من حجم الكروموسوم وقد تلعب هذه الاجزاء دورا هاما فى نقل المادة الوراثية بين البكتيريا مثل عامل الخصوبة F- factor الموجود فى البكتيريا *E. coli* K-12 .

ويطلق اسم البلازميدات على العناصر الوراثية (DNA) التى توجد فى السيتوبلازم ولا ترتبط بالكروموسوم ولا تدخل فى تركيبة . وتوجد أنواع من هذه البلازميدات حاملة للمعلومات الوراثية التى تحدد مقاومة او حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية كما فى انواع الـ *Salmonella*, *E. coli* وكذلك القدرة على تكوين الأورام النباتية فى حالة بكتيريا التدرن التاجى *Agrobacterium tumefaciens*.

٥ — الريبوسومات Ribosomes

يطلق هذا الاسم على الحبيبات ذات الاقطار التى تتراوح من ١٠ الى ٢٠ nm والتى تتكون من بروتين — وحمض ريبونيوكليك (Riponucloeprotein) (RNA-Protein particles) ويوجد بها ٩٠٪ من RNA الخلية، وتمثل ٤٠٪ من الوزن الجاف للخلية ، وهى التراكيب التى يتم فيها بناء البروتين . ويتناسب عدد الريبوسومات فى الخلية البكتيرية مع معدل النمو فى المزرعة فعندما يكون النمو على معدل مرتفع فان الخلية تحتوى على عدد كبير من الريبوسومات . وقد يصل عدد الريبوسومات فى السيتوبلازم الى ١٥,٠٠٠ حبيبة فى الخلية الواحدة السريعة النمو ، أما عند تعرض الخلية لنقص شديد فى الغذاء فإنها تحتوى فقط على عدة مئات من الريبوسومات ويمكن ترسيب الريبوسومات على سرعات عالية بجهاز الطرد المركزى فائق السرعة ultracentrifuge ، فكلما كانت أسرع فى الترسيب دل ذلك على كبر كثافتها او اقطارها والريبوسومات البكتيرية تعتبر من النوع الصغير (70 S) ribosomes والحرف S يشير إلى وحدة الترسيب وهو الحرف الأول من اسم العالم السويدى سفدبارج Svedberg والذى لعب دورا هاما فى تقدم عملية الطرد المركزى فائقة السرعة . وتتكون الريبوسومات من وحدتين ففى حالة البكتيريا تكون الوحدتين من 50 S, 30S واثناء بناء البروتين فأنهما يتحدان ليكونان ريبوسومات كبيرة 70 S، وتنفصل الريبوسومات 70 S الى الوحدتين الاصغر 30S , 50 S فى معلق من محلول ذو تركيز منخفض ١٠ - ٤ جزيئى من المغنسيوم (Mg^{++}) ثم يعاد تصاحبها بزيادة تركـــيز المغنسيوم الى ١٠ - ٢ جزيئى . وعند بناء البروتين فان عدد من ريبوسومات 70 S ترتبط بواسطة ال Messenger RNA (m RNA) لتكون سلاسل تعرف بالبوليسومات Polysomes (شكل ٢٥) ويبدو أنه يوجد نوع من الارتباط بين البوليسومات والغشاء السيتوبلازمى خلال بناء البروتين .

ويلاحظ ان الريبوسومات فى خلايا الايوكاريوتات تتكون من وحدات 40 S ووحدات 60S يتحدان ليكونان ريبوسومات 80 S .

٦ — حوامل الألوان Chromatophores

تحتوى البكتيريا الممثلة للضوء على صبغات وكذلك إنزيمات تختص بتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيماوية . وتوجد هذه الصبغات والانزيمات المحولة للطاقة فى تراكيب ذات أغشية تسمى حوامل الالوان Chromatophores (شكل ٢٦ وشكل ٢٧) وحوامل الألوان فى بكتيريا الكبريت القرمزية (*Chromatiaccae*) وبكتيريا الكبريت غير القرمزية (*Rhodospirillaceae*) عبارة عن امتدادات للغشاء السيتوبلازمى باشكال مرفولوجية مختلفة ، ففى بعض البكتيريات تكون على صورة حويصلات Vesicles أو على صورة أجسام أنبوبية أو فى صورة نظام متراص على هيئة طبقات . وجهاز التمثيل الضوئى فى حالة بكتيريا الكبريت الخضراء (*Chlorobiaceae*) ، يوجد فى صورة أكياس داخلية internal sacs (chlorobium vesicles) وهذه الاكياس ليست امتدادات للاغشية السيتوبلازمية فهى بذلك لا تحاط بأغشية بل تحدد من الخارج بطبقة واحدة من الكلوروفيل تمثل سطحها الخارجى . معظم خلايا الكائنات ذات النواه البدائية والتى تقوم بعملية التمثيل الضوئى تحتوى على فجوات غازية gas vacuoles ، تعمل كوسيلة لتنظيم العمق الذى تحفظ عليه هذه الكائنات فى الوسط المائى الذى تنمو فيه . حيث أن هذه الأنواع غير متحركة فيما عدا شواذ وبذلك فإن هذه الفجوات تكون وسيلة لتحريك الكائن ليعلو أو ليهبط ليعيش فى منطقة ذات إضاءة مناسبة .

٧ — السيتوبلازم الذائب Soluble cytoplasm

يصعب تخصيص أو تحديد هذا الجزء الخلوى ولكن يمكن التأكد من أن هذا الجزء يشتمل على اكثر من ٥٠٪ من بروتين الخلية ، وكذلك على



معظم النظم الانزيمية بالخلية، علاوة على ما يحتويه من مواد غذائية ذائبة.

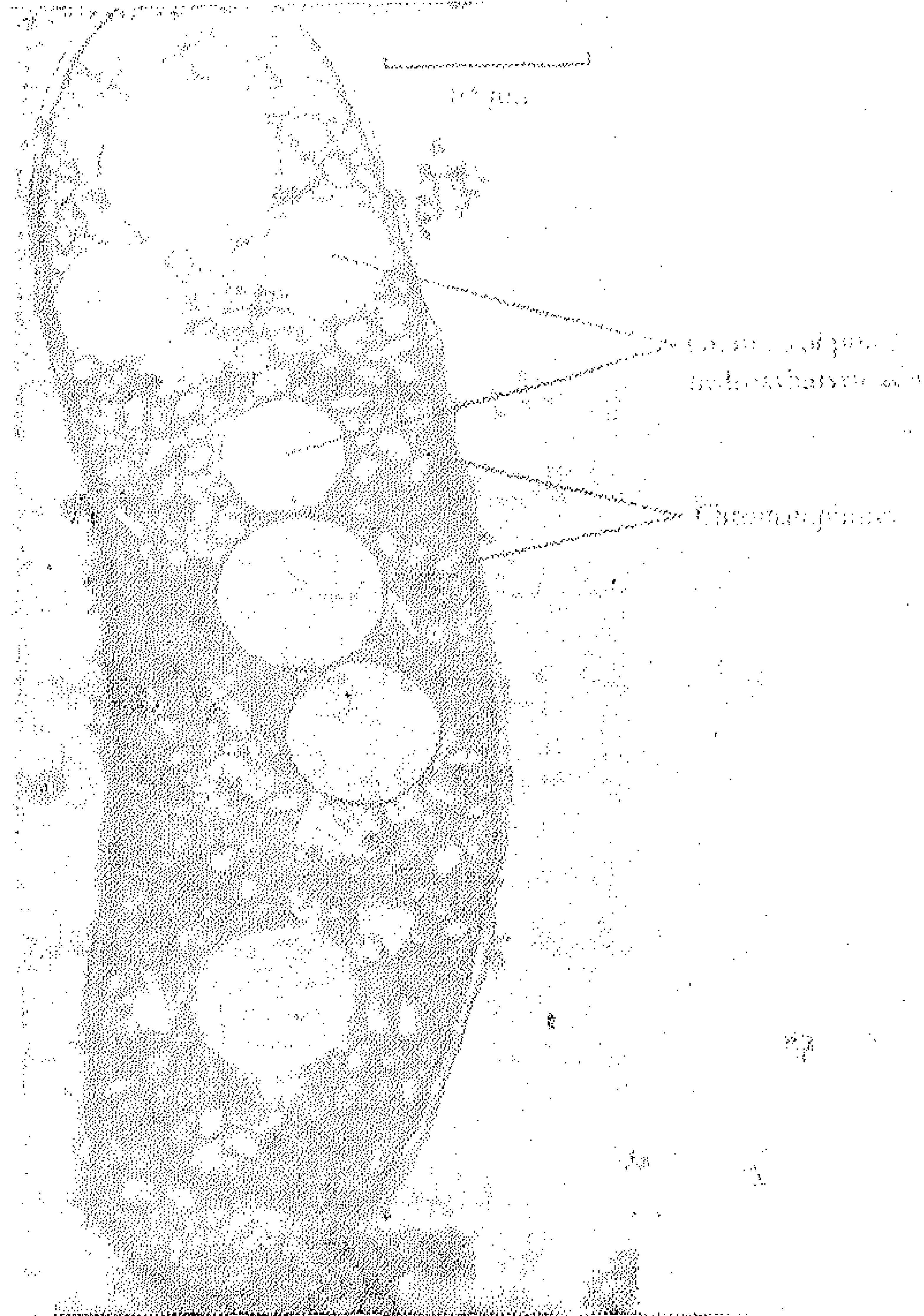
٨ — المواد المخزنة أو المحتويات السيتوبلازمية **Storage materials** or Cytoplasmic inclusions

كثير من البكتيريا تخزن حبيبات granules فى السيتوبلازم وهذه الحبيبات تعمل كمخزن للمواد الغذائية ويمكن مشاهدتها بطرق صبغ خاصة وتكون هذه الحبيبات كبيرة بدرجة يمكن مشاهدتها بالميكروسكوب الضوئى. ويبدو أن الخلية تتجنب

شكل ٢٥ : صورة إلكترو ميكرو سكوبية تبين تكون البوليسومات Polysomes **نتيجة لارتباط الريبوسومات مع** الـ RNA (عن Levey et al. 1973) .



شكل ٢٦ : صورة إلكترو ميكرو سكوبية تبين الثنيات الكثيرة المتكونة من الغشاء السيتوبلازمى فى البكتيريا الممثلة للضوء *Ectothiorhodospira mobilis* (عن Nester et al. 1978.)



شكل ٢٧ : قطاع رقيق للبكتيريا الممثلة الضوء *Rhodospirillum rubrum*
لاحظ أن السيتوبلازم ممتلىء بحوامل لألوان Chromatophores والحبيبات granules
المتكونة من حمض البولى – بيتا – هيدو كس بيوتريك (عن Nester et al. 1978)

مشكلة زيادة الضغط الاسموزى فى داخلها بتحويل العديد من الجزيئات الصغيرة الى عدد قليل من الجزيئات الكبيرة غير الذائبة. وبناء هذه المحتويات السيتوبلازمية يعتمد كثيرا على ظروف البيئة وعلى نوع الكائن . فاذا كانت البيئة تحتوى على زيادة من المواد الغذائية فان الخلايا غالبا سوف تحول هذه المواد الى صورة جزيئات كبيرة وتخزنها حتى وقت

الحاجة اليها وتختلف البكتيريات فى أنواع المواد التى تخزنها ومن هذه المواد :

ا — حبيبات الجليكوجين Granulose Glycogen granules

تظهر حبيبات الجليكوجين ككرات شفافة بدون غشاء فى الصــور الالكتروميكروسكوبية . ومن أمثلة البكتيريا التى تظهر فيها هذه الحبيبات *E. coli.* و *Aerobacter aerogenes.* ، وقد يمثل الجليكوجين فى بعض الاحيان ٢٥ الى ٥٠٪ من الوزن الجاف للخلية . وتميل حبيبات الجليكوجين للتراكم فى *E. coli* تحت ظروف نقص النيتروجين وعندما تضاف المواد النيتروجينية مثل املاح الأمونيوم فأن الجليكوجين المتراكم سوف يتحطم ويستعمل كمصدر للكربون والطاقة .

ويمكن صبغ حبيبات الجليكوجين باستعمال محلول مخفف من اليود حيث تظهر هذه الحبيبات فى صورة أجسام حمراء أو قرمزية .

ب— حبيبات الدهون Lipid granules

يطلق هذا الاسم على المواد التى تذوب فى مذيبات الدهون مثل الايثير ethyl ether والاسيتون . وتستعمل صبغة السودان الاسود Sudan black لصبغ هذه الحبيبات الدهنية ، وهذه الصبغة تذوب فى الدهون وبالتالى يمكن مشاهدتها ميكروسكوبيا . وعادة يكون التركيب الكيماوى لهذه الحبيبات الدهنية فى البكتيريا هو حمض البولى بيتا هيدروكسى بيوتريلك Poly - β - hydroxbutyric acid (شكل ٢٧) ويلاحظ أن تكوين كميات كبيرة من هــذا الدهن يعتمد على وجــود مصادر كربونية معينة ، مثل الخلات acetate والبيوتيرات butyrate .
وتخزن البكتيريا *Bacillus megatcrtium* و *Pseudomonas solanacearum,* كميات كبيرة من حمض البولى بيتا هيدوكسى بيوتريلك . وفى الكائن الثانى

تصل نسبة هذا المركب الى حوالى ٦٠٪ من الوزن الجاف الخلوى . كما هو الحال فى الجليكوجين فان عدم ذوبان هذا الدهن فى الماء لا يؤثر اطلاقا على الضغط الأسموزى بداخل الخلية .

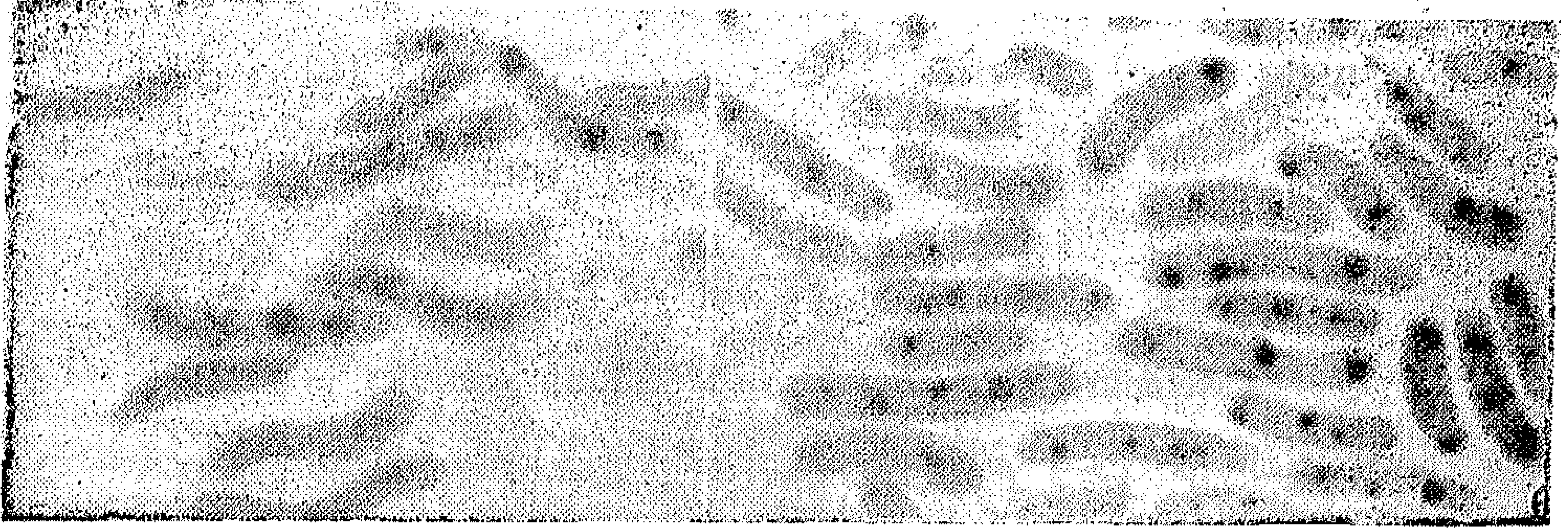
جـ - عديد الفوسفات غير العضوى Inorganic polyphosphate

(Metachromatic granules =) (volutin granules =)

تميل هذه الحبيبات للتراكم عند نهاية دورة النمو وتختفى من السيتوبلازم اذا نقلت الخلايا الى بيئة جديدة . وقد وصفت هذه الحبيبات كصفة مميزة للبكتيريا *Corynebacterium diphtheriae* . ونظرا لطبيعة حبيبات الفوليوتين الحمضية فأنها تصطبغ بشدة بالصبغات القاعدية . وقد أطلق على هذه الحبيبات اسم metachromatic granules وذلك بسبب اكتسابها لونا يخالف لون الصبغة المستعملة ، فعندما تصبغ مثل هذه الحبيبات بصبغة مثل التولودين Toluidine (شكل ٢٨) أو أزرق المثلين فأنها تأخذ ألوانا مختلفة عن لون الصبغة الاصلى . وعديد الفوسفات فى البكتيريا قد يتكون من سلسلة من ٥٠٠ وحدة من الفوسفات وعلى ذلك يتكون جزئ غير ذائب لا يؤثر على الضغط الاسموزى بداخل الخلية ويبدو أن هذه الفوسفات المخزنة تعتبر مصدرا للفوسفات يستغل بواسطة الخلية عند تخليق الاحماض النووية والفوسفوليبيدات (الدهون الفوسفورية) .

د — قطرات الكبريت : Sulfur droplets

تخزن بعض البكتيريات الكبريت فى صورة كبريت عنصرى داخل الخلايا (شكل ٢٩) . وهو يخزن فى خلايا بعض انواع البكتيريا مثل بكتيريا الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria حيث تستعمل يدي٢كب كمعطى للايدروجين وترسب الكبريت الناتج داخل الخلايا . والبكتيريا *Beggiatoa* قد تحصل على الطاقة عن طريق اكسدة الكبريتيد وان الكبريت الناتج يتراكم أيضا داخل الخلايا . وبمجرد ان يصبح الكبريتيد محدود فى البيئة فان كلا المجموعتين تؤكسدان الكبريت الى كبريتات .



شكل ٢٨ : خلايا من جنس *Spirillum* مصبوغة بالتوليودين تبين حبيبات الفوليوتين volutine



شكل ٢٩ : خلايا البكتيريا *Thiospirillum Jenese* وبها حبيبات الكبريت .

(عن Schlegel and Pfenning 1961)

المراجع

Blank, F. 1953. Biochem Biophys. Acta. 10 : 110 — 113.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035 p.

Castle, E. S. 1945. Am. J. Bot. 36. 148 — 151.

Duguid, J.P. and J. F. Wilkinson. 1953. J. Gen. Microbiol. 9 : 174 — 189.

Foster, J.W. 1949. Chemical activities of fungi. Academic Press, New. York.

Frey, R. 1950 Ber. schweiz Bot. Ges. 60 : 199 — 230.

Goebel. W. F. 1939. J. Exp. Med. 69: 353 - 364.

Heidelberger, M.1935. 12 th growth symposium Princeton N.J.Princeton University Press.

Klieneberger-Nobel, E. 1965 Focus on Bacteria. Academic Press, Londoni and New York, 145 p.

Knaysi, G. 1951. Elements of Bacterial Cytology. 2nd Ed. Comstock (Cormell University Press), Ithaca. New York.

Levy, J., J.J.R. Campbell, and T.H. Blacklburn. 1973. Introdctory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New-York. 684 p.

Lundgren, D.G., D.J. Ellar, and R. Silepeckly.1967. J. Bacteriol 94 : 1189.

Mason. D. J. and D. M. Powilson. 1956. J. Bacteriol 71 : 447,

Mudd,S. L.C. Winterscheid, E.D. Dclamater and H. Henderson 1951. J. Bacteriol 62 : 459.

Murray, R.G.E. 1960 "The internal structure of the cell ,,The Bacteria (I.C. Gunslus & R.Y stanier, Eds.) Academic Press N.Y. & London.

Nester, E.W., C. E. Roberts, NN, Pearsall, and B.J. McCarty, 1978. Microbiology. Halt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.

Neufeld, F. 1920 Z. Hyg. 40, 45 — 72.

Northcote, D.H. and B. W. Horne 1952. Biochem. J. 51 : 233 — 236.

Piekarski, G. 1937. Arch, Mikrobiol. 8 : 428.

Robiniow, C.F. 1956 in "Bacterial Anatomy" (E.T.C. spooner and B.A.D. Stocker) eds. p. 181. Chambridge Univ. Press. London and N.Y.

Salton, M.R. and R. W. Horne 1951. Biochem., Biophys. Acta. 7 : 177 — 187.

Schlegel, H. G. and N. fenning 1961. Arch. Mikrobiol. 38 : 28 .

Thimann, K.V. 1961. The life of Bacteria. The Mac Millan company, N.Y. 775 pages.

Tulanse, R. and R. Venderl, 1947. Nature 160 : 225.

Weibull, C. 1953. J. Bacteriol. 66 : 137.

Widra, J.1956. Bacteriol J. 71 : 689.

الفصل الثالث

حركة البكتيريا

يمكن لخلايا البكتيريا أن تتحرك بطرق شتى فبينما نجد بعض البكتيريا تتحرك حركة إنزلاقية gliding movement وتتميز بهذا النوع من الحركة أفراد البكتيريا الهلامية Myxobacteria وأفراد الجنس *Beggiatoa*: ونرى البعض الآخر يتحرك حركة دودية flexion movement أو حركة دائرية سريعة على طول محور الخلية كما فى الإسبيروكيتات Spirochaetes وستناقش هنا هذه الأنواع من الحركة .

معظم البكتيريا المتحركة motile تمتلك أعضاء دقيقة وطويله يطلق عليها أعضاء الحركة تسمى الأسواط flagella (مفرد Flagellum). والأسواط خيوط دقيقة جدا من البروتين تخرج من السيتوبلازم خلال الجدار الخلوى وطبقة الغلاف ويتراوح سمك السوط من ١٠ إلى ٣٠ نانو ميتر (n m) وقد يصل طوله إلى ١٥—٢٠ ميكرو ميتر (µ m) ولا يشاهد بالميكروسكوب الضوئى إلا بطرق صبغ خاصة ، فيعامل الغشاء أولا بمعمق اللون mordant وغالبا يكون محلول غروى غير ثابت والذى يرسب طبقة سميكة لمادة قابلة للصبغ فوق سطح الخلايا وسطح الأسواط أيضا . ثم يستعمل بعد ذلك صبغة مناسبة . هذه المادة المرسبة تظهر بالميكروسكوب الضوئى كخيط مصبوغ والذى يحتوى ويمثل شكل السوط نفسه . وأحسن طريقة لتحديد عدد الأسواط وتوزيعها على الخلية هو بإستعمال الميكروسكوب الإلكترونى . والسوط يكون متموج وأن طول الموجة غالبا يكون ثابت للسلالة البكتيرية المعينة .
ويوجد توزيعين أساسيين للأسواط :

١ — عند طرف أو طرفى الخلية ويطلق عليه تسوط طرفى polar flagellation وقد يكون سوط واحد عند الطرف polar monotrichous flagellation (شكل ٣٠) أو عديد من الأسواط

عند الطرف polar multirichous flagellation (شكل ٣١) . (قد يطلق على البكتيريا التى تحتوى ٢ أو أكثر من الأسواط عند طرف واحد الإسم lophotrichous والتى تحتوى على خصلة من الأسواط عند كلا الطرفين إسم amphitrichous) .

٢ — توجد الأسواط موزعة عند عدة نقط على إمتداد جسم الخلية ويطلق علية تسوط محيطى peritriehous flagellation (شكل ٣٢).

ولقد وصف ليفسون Leif son (١٩٦٠) توزيع الأسواط على سطح الأنواع المختلفة من البكتيريا (شكل ٣٣) كالآتى :

١ — تسوط طرفى polar وفيها قاعدة السوط موازية للمحور الطولى للخلية وقد تكون :

ا — وحيدة التسوط monotrichous

أو ، ب — عديدة التسوط multitrichous

٢ — تسوط تحت طرفى subpolar ويوجد سوط واحد أو اكثر بالقرب من الطرف وتجد أن قاعدة السوط متعامدة مع المحور الطولى لجسم الخلية وقد تكون .

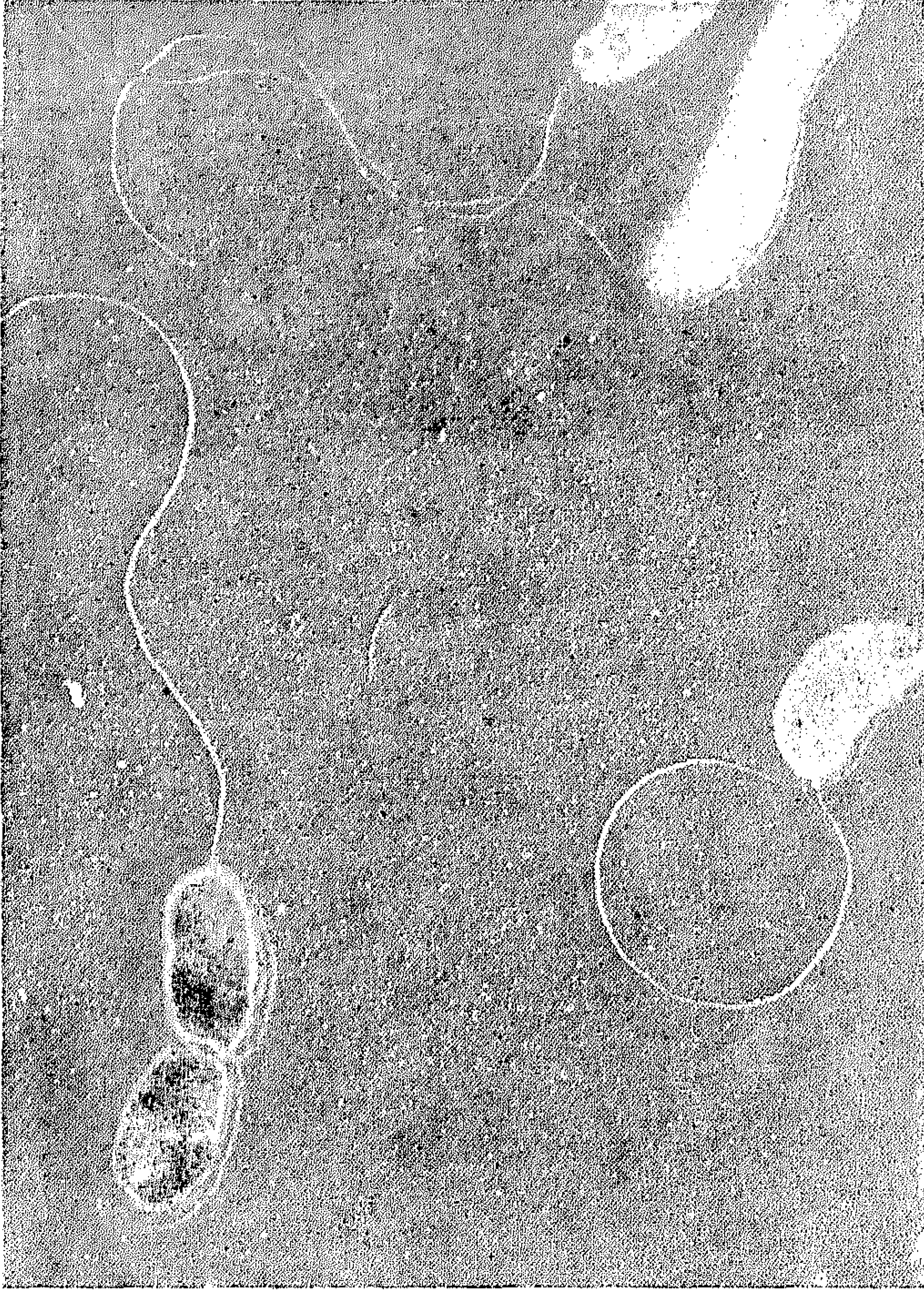
ا — وحيدة التسوط . أو ب — عديدة التسوط .

٣ — جانبية التسوط : Lateral

ا — وحيد التسوط : دائما السوط على النصف الوسطى للخلية .

ب — عديد التسوط : عدة أسواط أو خصلة من الأسواط على النصف الوسطى للخلية .

٤ — جسمية التسوط peritrichous : الأسواط موزعة إعتباطيا ماعدا الأطراف .

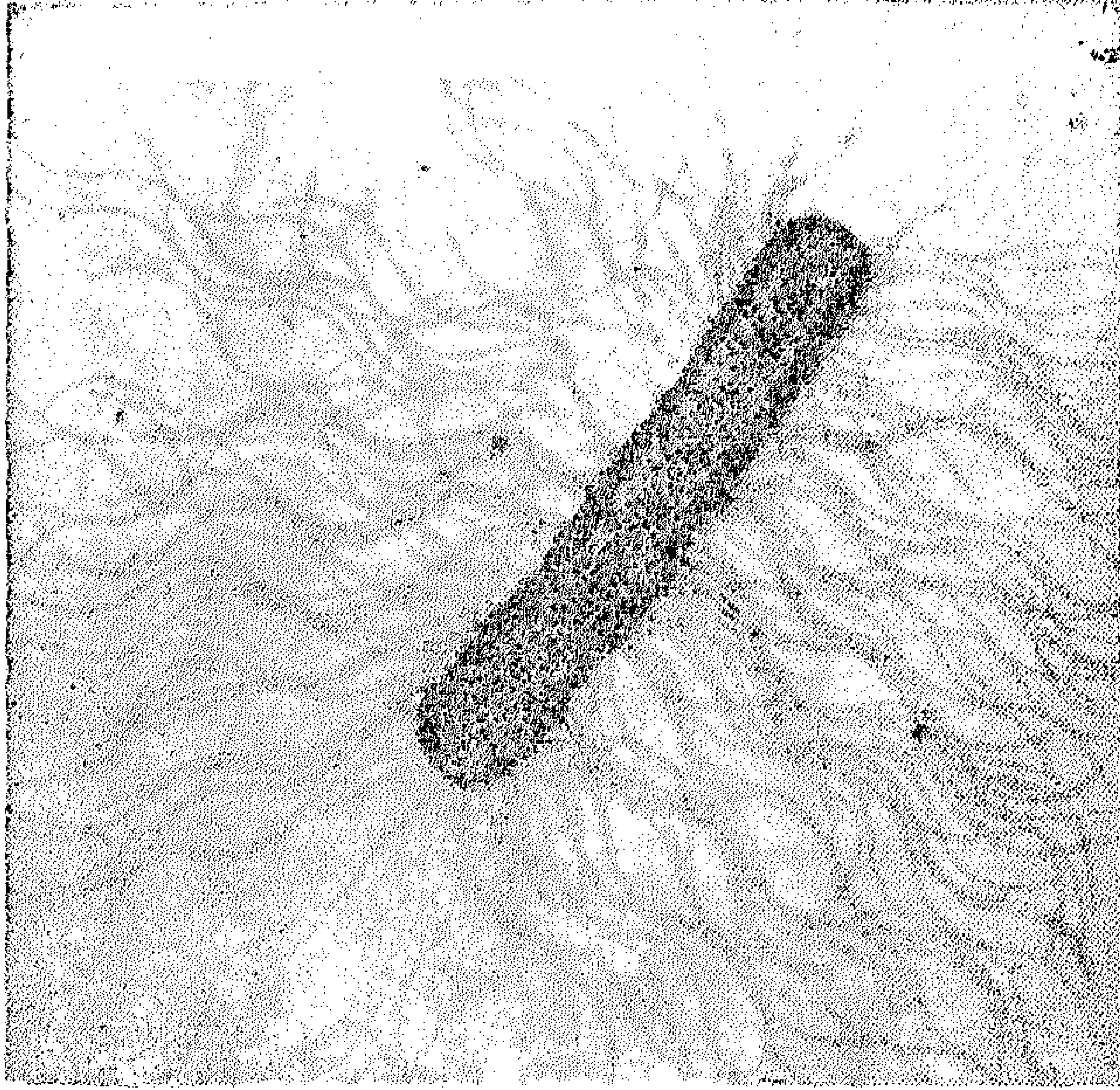


شكل ٣٠ : صورة إلكتروميكروسكوبية للبكتيريا *Vibrio metchnikovi*
تبين الأسواط الطرفية الفردية لاحظ الجدر الخلوية لهذه البكتيريا ووضوحها على الجانب الأيمن من الخلية، لاحظ الإنثناءات المميزة للأسواط × ١٠٠٠٠ (عن Klieneberger - Nobel 1965)



شكل ٣١ : خلية من نوع يتبع جنس *Spirillum* يتميز بسرعة حركته فى اتجاه مستقيم وينعكس إتجاهه فجأة . ويمتلك مجموعة من الأسواط على كل من طرفيه . لاحظ تجمع الأسواط . كما تلاحظ النقط الغامقة بداخل الخلية والتى تمثل الفجوات (× ٣٥٠٠٠)

(عن Klieneberger - Nobel 1965)



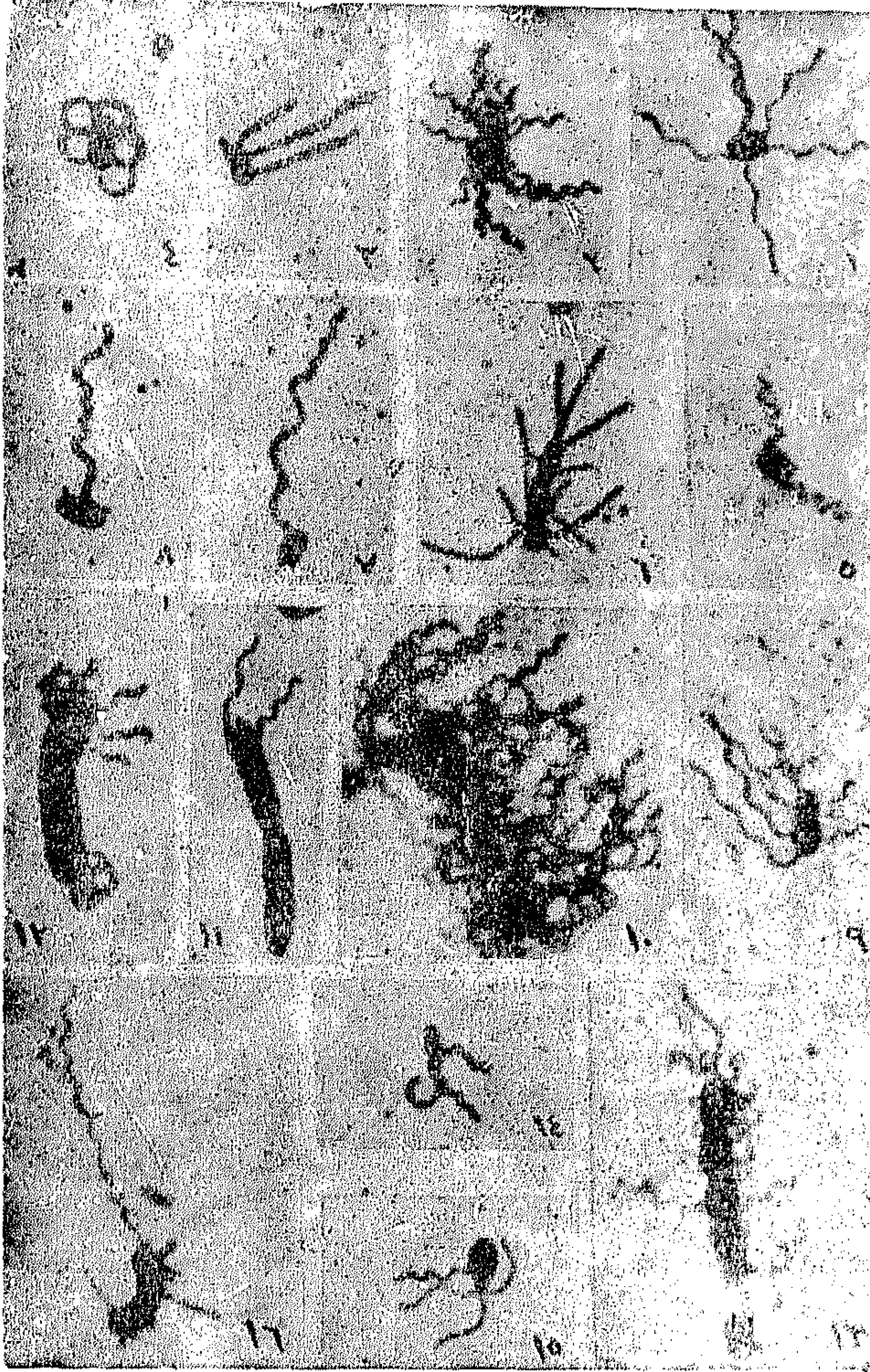
شكل ٣٢ : صورة إلكترو ميكروسكوبية لإحدى سلالات البكتيريا تبين التسوط المحيطى .
(عن Levy et al. 1973)

٥ – مختلطة التسوط mixed : حيث يوجد سوطان أو أكثر فى مناطق مختلفة من سطح الخلية .

وسجلت حالات لأسواط مغلفة sheathed flagella فتوجد أمثلة من أصناف varieties تابعة للجنس *Vibrio* والجنس *Bdellovibrio*، ووجد أن الغلاف فى هذه الحالات يتكون من إمتداد الطبقات الخارجية للجدار الخلوى .

تركيب السوط :

تنشأ الأسواط من أو من خلال الغشاء السيتوبلازمى وقد ثبت ذلك من أن الأسواط تظل متصلة بالسيتوبلازم (شكل ٣٤) عندما هضمت جدر بعض الخلايا المسوطة والحساسة لإنزيم الليزوزايم بتحضيرات من هذا الإنزيم،

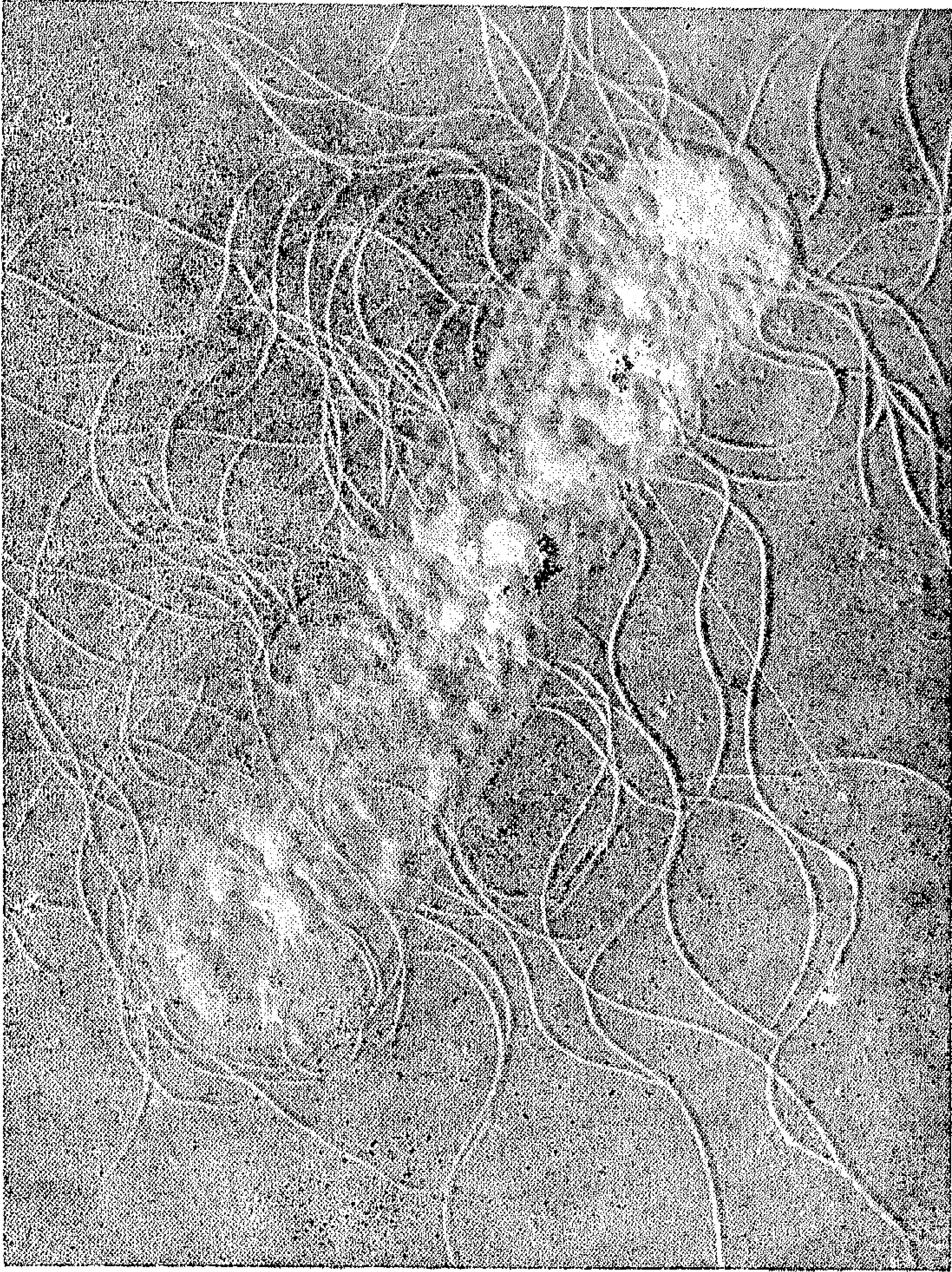


شكل ٣٣ : لوحة تبين أشكال الأسواط البكتيرية وتوزيعاتها المختلفة على الخلايا البكتيرية.
١ — أسواط عادية . ٢ — موجة . ٣ — قليلة التموج . ٤ — ملتفة . ٥ — نصف ملتفة . ٦ — مستقيمة . ٧، ٨ — فى كل حالة سوط واحد يظهر ظاهرة أزدواج التموج biplicity — ٩، ١٠ أسواط جسمية مختلفة فى طول موجاتها ١١ ، ١٢ ، ١٣ — طرفية وتحت طرفية وجسمية مختلطة mixed ١٤ — الشكل الخطافى هو السوط الطبيعى ، لاحظ منشأة التحت طرفى . باقى الأسواط غير معروفة المنشأ . ١٥ — أسواط طرفية وجسمية مختلطة . ١٦ — سوط طرفى واحد طويل . الزوائد الأخرى غير معروف طبيعتها أو وظيفتها يحتمل أن تكون زوائد التصاق fimbriae.

ويلاحظ أن الجدار الخلوى السليم يعتبر ضروريا لحركة البكتيريا نظرا لأن الخلايا المتحركة المعاملة بالليزوزايم تكون عبارة عن بروتوبلاست يحمل أسواطا ولكن غير قادر على الحركة .

والسوط يتكون من ٣ أجزاء (شكل ٣٥ و شكل ٣٦) . الجزء الذى يظهر فى التحضيرات المصبوغة وهو الخيط Filament ويظهر بشكل حلزونى helical عند الفحص الميكروسكوبى . والخيط يتكون من عدد من ألياف من البروتين والتى تلتوى أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز أجوف (شكل ٣٧) . وعدد الألياف يختلف من ٣ إلى ٦ ألياف وفى حالة البكتيريا *Bacillus pumilus* توجد ٦ ألياف من بروتين حبيبى تلتف حول بعضها لتعطى تركيب يشبه الحبل . والمظهر العام للخيط عبارة عن حلزون (helix) ذو قناه مفتوحة خلال الخيط كله . وإذا حصلنا على معلق من هذه الخيوط وخفض pH المعلق إلى ٣ أو ٤ ثم عومل بـ Detergent فإن هذه الخيوط تعطى بروتين ذائب يسمى الفلاجللين flagellin . ويختلف التركيب الكيماوى لهذا البروتين بإختلاف نوع البكتيريا ولكن يتميز هذا البروتين ببعض الصفات الثابتة مثل غياب الحمض الأمينى السيستايين Cysteine منه وإحتوائه على كميات قليلة من الأحماض الأمينية الحلقية وكميات كبيرة من حمض الجلوتاميك وحمض الأسبارتيك .

ويبدو أن الأسواط تزداد فى الطول عن طريق وحدات البروتين التى تكون السوط والتى تخلق فى السيتوبلازم عند قاعدة السوط . وأن البروتين الكروى التام التخليق يمر خارج الخلية خلال الثقب المحورى للسوط ثم يضاف كوحدة فى الخيط النامى . وللسوط طول معين فى النوع البكتيرى الواحد وعندما يكمل هذا الطول يقف بناء هذه الوحدات ولكن إذا حدث وأن قطع جزء من السوط لأى سبب من الأسباب فإن بناء الوحدات يستمر من جديد حتى يصل السوط إلى طوله المعتاد .

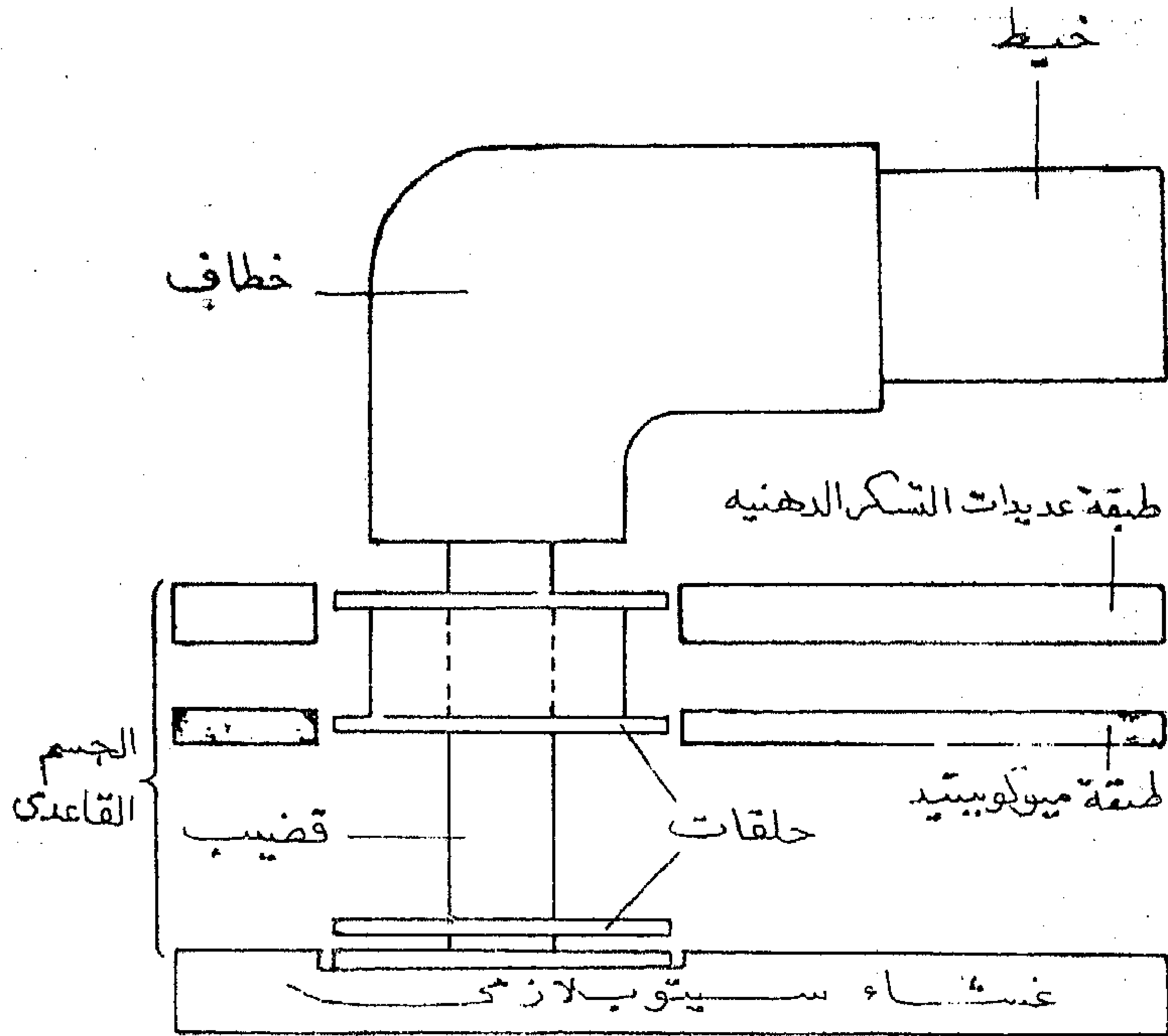


شكل ٣٤ : صورة إلكتروميكروسكوبية لبروتوبلاست خلية *Proteus vulgaris* تبين الأسواط المحيطية . لاحظ أن الأسواط لازالت عالقة بالبروتوبلاست رغم غياب الجدار الخلوى ويلاحظ أيضاً المظهر الحبيبى للسيتوبلازم والأماكن التى تخرج منها الأسواط (× ٢١٠٠٠)
(عن Klieneberger - Nobel 1965)

ويؤدى حدوث إضطراب للجدار الخلوى عن طريق المعاملة بالمضادات الحيوية أو بإنزيم الليزوزايم إلى تثبيط بناء الأسواط بالرغم من المنشأ السيتوبلازمى للأسواط .

الجزء الثانى من السوط وهو الخطاف hook وهو التركيب الذى يخترق الجدار الخلوى ويصل الخيط بالجسم القاعدى Basal body والخطاف عبارة عن تركيب منحنى ومن المحتمل أنه يتكون من ألياف بروتينية . وعموما فإن التركيب الكيماوى للخطاف وكذلك وظيفتة لا زالت غير محددة وتحتاج إلى مزيد من الدراسة .

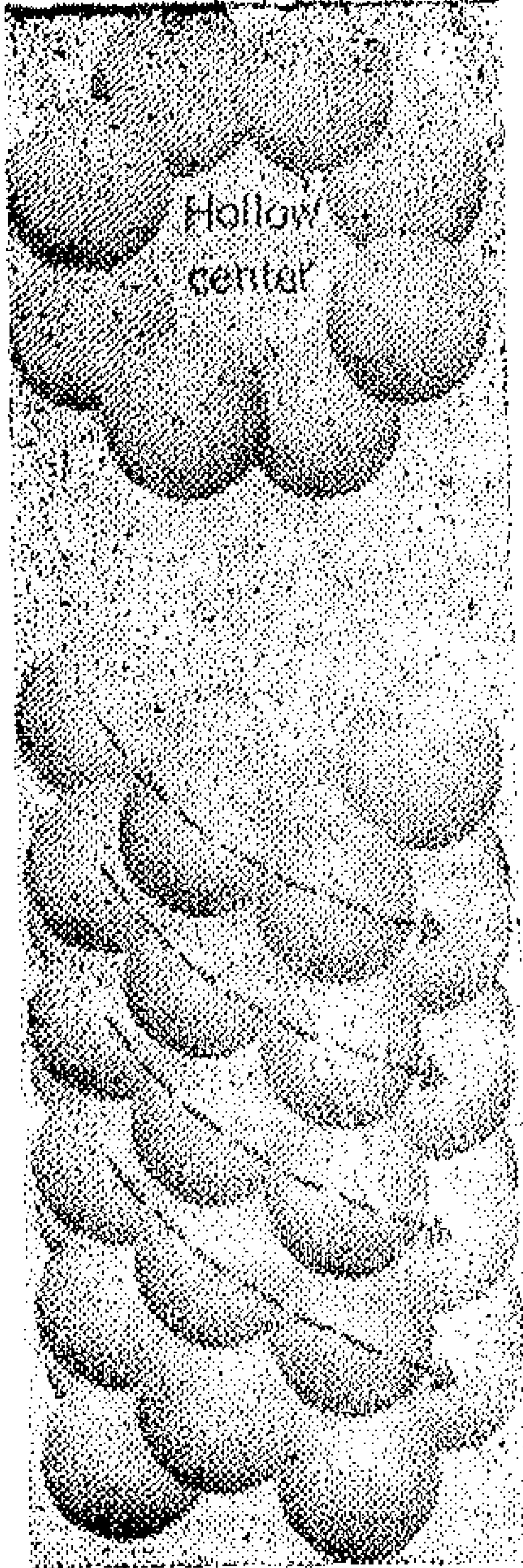
الجزء الثالث من السوط وهو الجسم القاعدى Basal body وهو الذى يربط الخطاف والخيط بالغشاء السيتوبلازمى . والجسم القاعدى فى البكتيريا السالبة لجرام يتكون من زوجين من الحلقات يتصلان بقضيب والذى يستمر خلال الخطاف . ويعتقد أن الحلقة الداخلية لزوج الحلقات القريب من مركز الخلية ترتبط بالغشاء السيتوبلازمى ، أما الحلقة الداخلية من زوج الحلقات



شكل ٣٥ : رسم تخطيطى يبين تركيب السوط فى البكتيريا *E. coli,* (عن Nester et al 1978)



شكل ٣٦ : صورة إلكترونميكروسكوبية ، تبين شكل الجسم القاعدى للسوط (عن Levy et al ·1973)



البعيد عن مركز الخلية فربما تكون متصلة بطبقة الميورين فى الجدار الخلوى والحلقة الخارجية تتصل بطبقـة عديدات التسكر الدهنية فى الجدار الخلوى . أما فى الخلايا الموجبة لجرام فإن الجسم القاعدى يتكون من زوج من الحلقات ، الحلقة القريبة من مركز الخلية تتصل بالغشاء السيتوبلازمى وغالبا لا يوجد إتصال مميز مع الجدار الخلوى .

شكل ٣٧ : يبين الشكل العام لخيط Filament السوط والذى يتكون من عدد من ألياف من البروتين الحبيبى والتى تلتوى أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز مجوف **hollow center** . (عن Levy et al. 1973)

ووجد أنه فى بعض البكتيريا مثل *Spirillum serpens* يوجد غشاء قطبى polar membrane أو صفيحة قطبية polar plate داخل الغشاء السيتوبلازمى وأن الجسم القاعدى قد يتصل بهذا الغشاء القطبى .

الحركة فى البكتيريا :

بفحص البكتيريا عند حافة تحضير النقطة المعلقة* يمكن تحديد ما إذا كانت البكتيريا متحركة أم عديمة الحركة . وتوجد طريقة بسيطة وفعالة فى تحديد الحركة فى البكتيريا غير الهوائية إختيارا وغير الهوائية . فعند تلقيح بيئة آجار نصف صلب تحتوى على نسبة قليلة من الجلوكوز بواسطة إبرة التلقيح ، فإن نمو البكتيريا غير المتحركة سوف يكون محدد فى خط التلقيح فى حين أن غير المتحركة سوف يتحرك خلال البيئة نصف الصلبة ؛ وذلك حتى تشبع إحتياجها من الجلوكوز والذى يؤدى إلى إنتشار البكتيريا خلال الآجار (شكل ٣٨) .

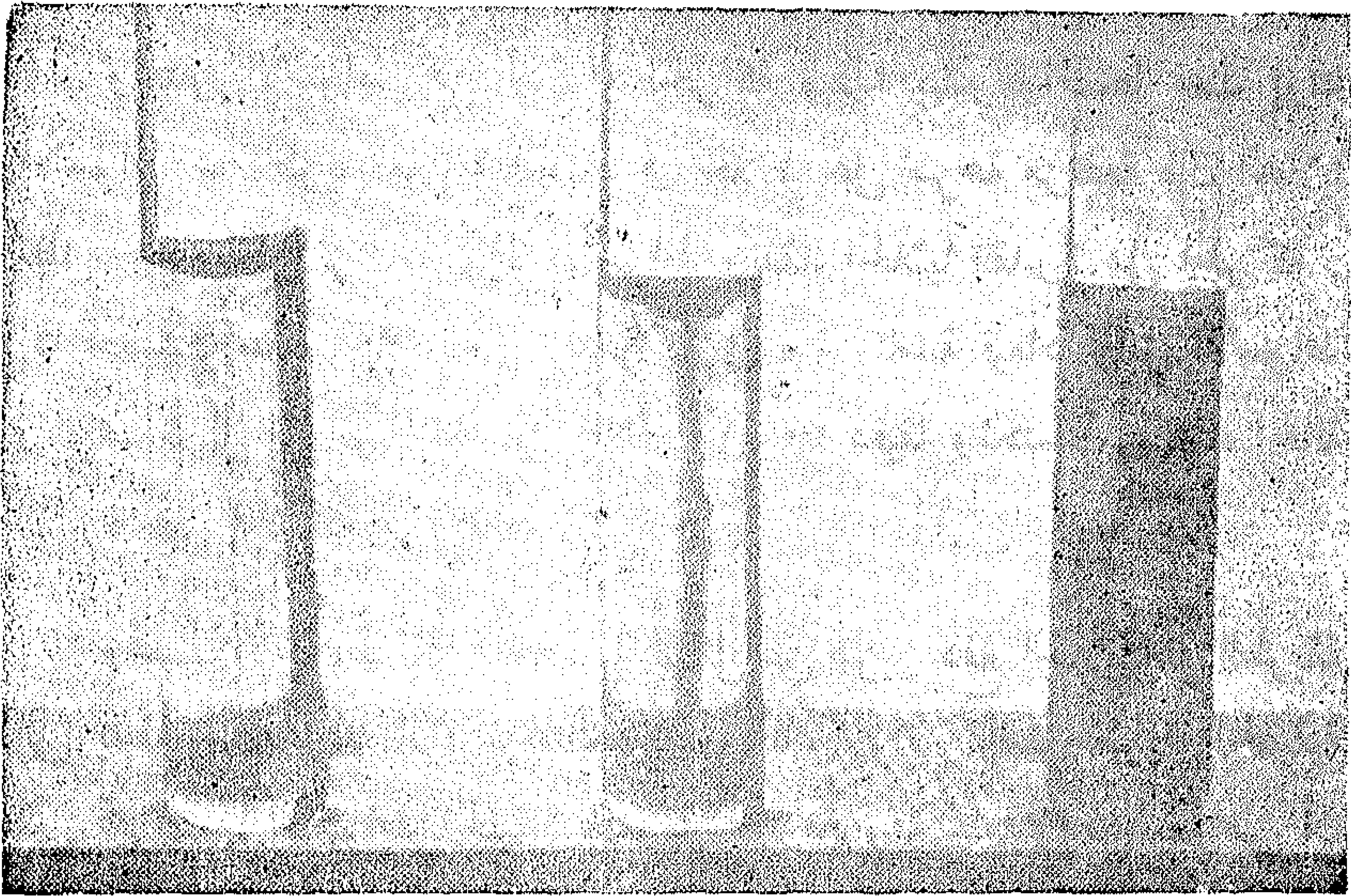
وتعتبر الأسواط هى أعضاء الحركة وهذا يبدو واضحا فعند إزالة الأسواط عن طريق معاملة الخلايا فى خلاط على سرعة مرتفعة فإن الخلايا تظل حية ولكن تزال خيوط الأسواط وتفقد الخلايا القدرة على الحركة . إذا حضنت هذه الخلايا غير المتحركة فى بيئة مناسبة فيعاد تخليق الأسواط وسوف تصل إلى طولها الطبيعى خلال ١٠ــ٢٠ دقيقة وتكتسب فى هذه الحالة القدرة على الحركة مرة ثانية .

وتحرك الأسواط الخلية خلال السوائل عن طريق دفع الخلايا مثل الطريقة التى يدفع بها المحرك (الرفاص) السفينة فى الماء . وإن كانت الطريقة الحقيقية التى تحرك بها الأسواط الخلية البكتيرية غير معروفة تماما ولكن يفترض أن السلاسل المكونة من جزيئات بروتينية كبيرة تنقبض وتنبسط مثل ألياف

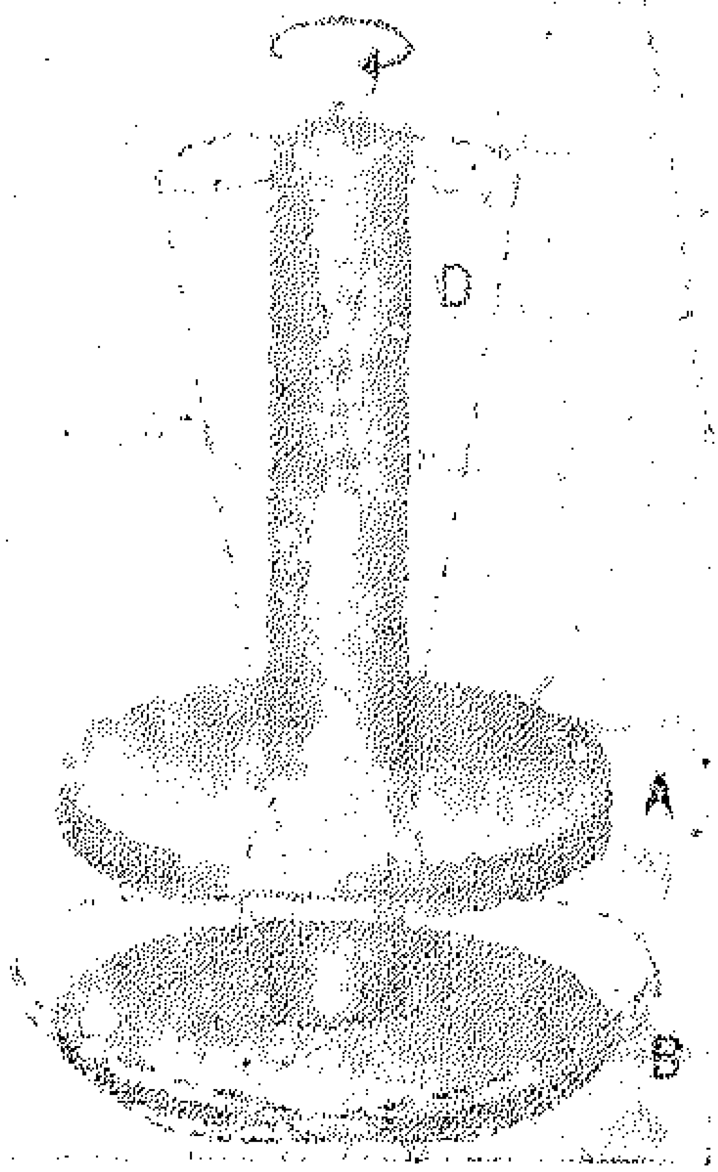
* أنظر الجزء الثانى من هذا الكتاب

العضلة وينتج عنها حركة تشبه التموج والتي تجذب أو تدفع البكتيريا . وحديثا يوجد إقتراح آخر لتفسير الحركة عن طريق الأسواط ، بإفتراض أن خيط السوط يعتبر مادة خاملة وأن الحركة تنشأ نتيجة لحركة الجسم القاعدى المتصل بالغشاء السيتوبلازمى حركة دائرية من جانب إلى جانب . وأن الخطاف الذى يعتبر تركيب صلب ينقل هذه التموجات إلى الخيط ليعطى مخروط من الحركة الدائرية a cone of revolution ، وبذلك فإن دوران الخيط يدفع الخلية للحركة للأمام (شكل ٣٩ و شكل ٤٠) .

ويمكن للبكتيريا أن تنجذب تجاه المواد الغذائية أو تجاه المواد الكيماوية positive chemotaxis أو تتحرك بعيدا عن مادة كيماوية ضارة negative chemotaxis ، فإن الخلايا تستطيع أن تكتشف وجود مادة غذائية ثم تنقل هذه المعلومات إلى الأسواط وبذلك تدور لتدفع الخلية .

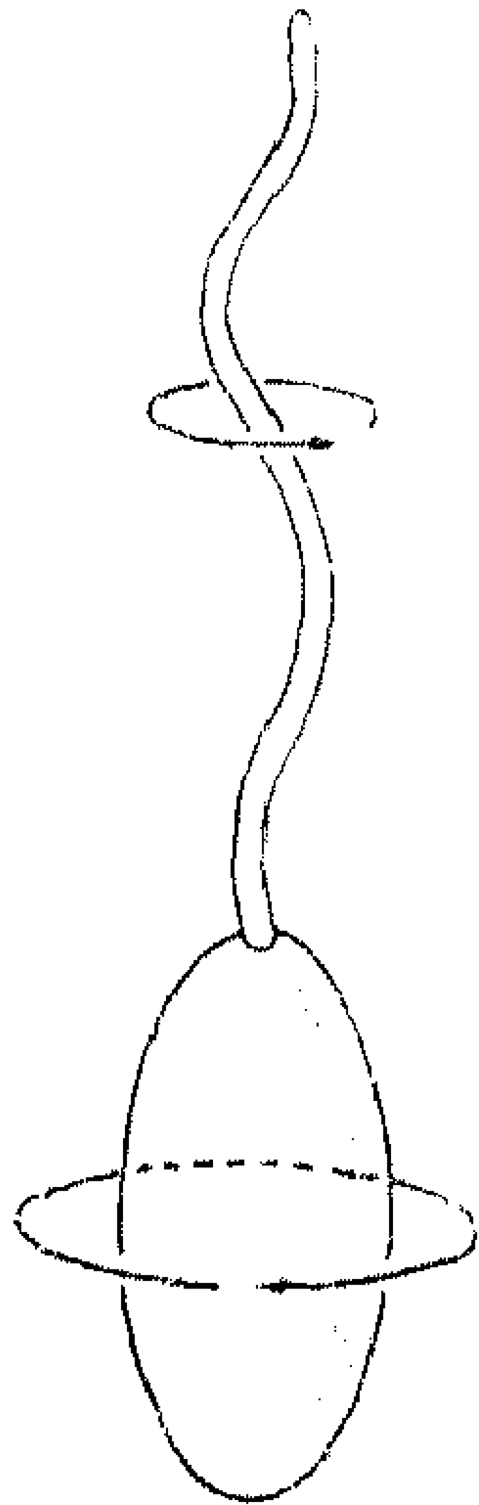


شكل ٣٨ : هذا الشكل يمثل الكشف عن حركة البكتيريا بإستعمال بيئة آجار نصف صلبة . إلى اليسار أنبوبة بيئة غير ملقحة . فى الوسط سلالة غير متحركة من البكتيريا تنمو فقط على إمتداد خط الوخز . إلى اليمين سلالة متحركة من البكتيريا تنمو بغزارة خلال البيئة (عن Levy et al. 1973).



ومن أمثلة الإستجابة الكيماوية الموجبة الحركة فى البيئة نصف الصلبة السابق الإشارة إليها فهى تعتمد على حقيقة أن البكتيريا المتحركة سوف تتحرك إلى منطقة يكون بها التركيز الأمثل من المادة الغذائية . مثل إستجابة *E. coli* إلى الجلوكوز فإن البكتيريا سوف تتحرك

شكل ٣٩ : رسم تخطيطى يبين الطريقة المحتملة لحركة السوط والتى تنشأ عن دوران الجسم القاعدى للسوط (عن Vaituzis and Doetsch 1969).



تجاه التركيز الأمثل من الجلوكوز فى حين أنه عند وجود تركيز زائد من الجلوكوز فإن الكائن لن يتحرك حتى يستهلك الجلوكوز فى المنطقة المحيطة به . ويلاحظ أن هذه الإستجابة تحت التحكم الوراثى فقد عزلت طفرات من *E. coli* تحتوى على أسواط كاملة ولكنها لن تتحرك تجاه الجلوكوز وأطلق عليها الطفرات البكماء dumb mutants

شكل ٤٠ : السوط يدفع الخلية ولاحظ أن السوط يدور فى إتجاه عكس الخلية (عن Nester at al 1978)

ويقـــال أن هنـــاك أماكن استقبـــال تحس البكتيريا بواسطتهـــا بوجود الكيماويات ، وأماكن الإستقبال هذه عبارة عن بروتينات فى الغشاء السيتوبلازمى تصاحب نشاط إنزيمات النفاذية permeases ، ويمكن للمواد الكيماوية أن ترتبط بها ، أما عن الكيفية التى يمر بها هذا التأثير إلى الأسواط فتبدو أنها لا زالت غير معروفة .

وبالإضافة إلى الإستجابة الكيماوية فإن بعض البكتيريات تستجيب إيجابيا إلى الضوء Phototaxis ، والبعض الآخر تستجيب إيجابيا أو سلبيا للأوكسوجين aerotaxis ، فالكائنات التى تحتاج إلى الأوكسوجين تتحرك تجاه الأوكسوجين والتى تنمو فى غياب الأوكسوجين تبتعد عنه . وحديثا ثبت أن بعض البكتيريا المتحركة تستجيب إلى المجال السالب للأرض وتتحرك تجاه الشمال فيما يعرف بالإستجابة المغناطيسية megnetotaxis . وتتحرك الأسواط على سرعة مرتفعة جدا وتسبب حركة للبكتيريا على معدل يزيد عدة مرات عن طولها فى الثانية وسجل أن أسواط *Spirillum serpens* تدور على معدل ٢٤٠٠ لفة فى الدقيقة .

ويمكن للبكتيريا أن تتحرك عن طريق الأسواط بسرعة كبيرة جدا تصل فى البكتيريا *Bacillus megaterium* إلى ٢٧ ميكروميتر فى الثانية وفى البكتيريا *Vibrio cholerae* إلى ٢٠٠ ميكرون فى الثانية . وفى الحالة الأخيرة يمكن القول إن الخلية البكتيرية يمكن لها أن تقطع مسافة مساوية لطولها خمسين مرة فى الثانية الواحدة وهذه السرعة عالية نسبياً ، فعلى سبيل المثال لو حاول إنسان طوله ستة أقدام أن يسبح بنفس السرعة فيشترط أن يسبح ١٠٠ ياردة فى الثانية الواحدة ، علما بأن أقل وقت سجل فى المباريات الأولمبية لسباحة ١٠٠ ياردة وصل إلى ٧٥ ثانية . وجدير بالذكر هنا أيضا أن الخلية البكتيرية تستهلك فقط ١ر٠٪ من نشاطها لغرض الحركة بمعنى أنها لا تبذل مجهودا كبيرا لتأدية مثل هذه الحركة السريعة نسبيا .

حركة البكتيريا التى تفتقر للأسواط :

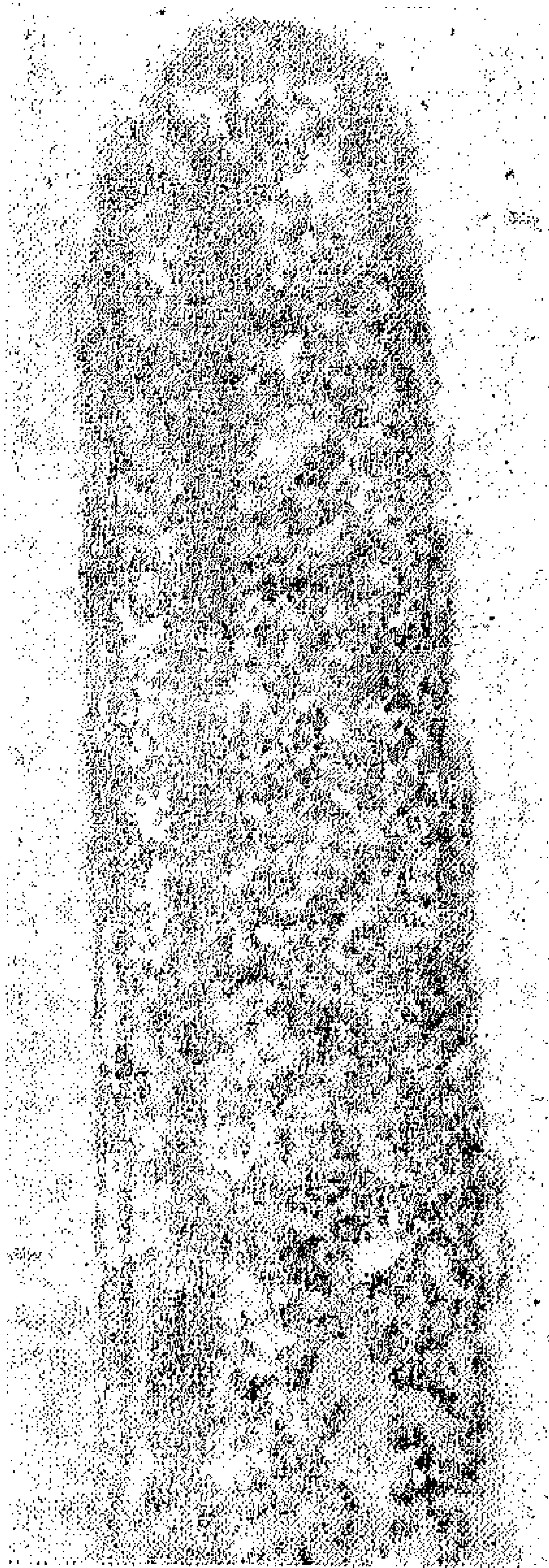
الحركة الانزلاقية : Gliding movement

يتميز بهذا النوع من الحركة أفراد البكتيريا الهلامية Myxobacteria وأفراد الجنس *Beggiatoa* ، وتتم الحركة رغم أن هذه البكتيريا لا تحمل أعضاء معينة لتأدية هذه الحركة الإنزلاقية . ومن الملاحظ أن هذه الحركة تحدث فقط فوق السطوح الصلبة ولا تحدث فى البيئات السائلة ، ولكنها قد تحدث على السطوح المائية المعرضة للهواء air-water interface .

وقد ترجع الحركة فى هذه البكتيريا إلى الإنقباضات التموجية oscillation والتى تحدث عندما يكون الخيط المتعدد الخلايا متصلا بجسم صلب . وقد تتم الحركة نتيجة للإنقباضات التى تحدث لطبقة البروتوبلازم الرقيقة الموجودة تحت الجدار . وهناك تفسيرا آخر لحركة هذه الكائنات يعتمد على قدرة خلاياها على إفراز كميات قليلة من المواد الهلامية ، وقد أمكن إظهار مثل هذه المواد الهلامية حول خيوط هذه الكائنات عند معاملتها بمحلول من الحبر الهندى . وقد حاول كثير من العلماء تفسير هذه الحركة على أساس وجود هذه المواد الهلامية ، إلا أن البعض الآخر يميل إلى الإعتقاد أن إفراز المواد الهلامية ما هو إلا نتيجة للحركة وليس السبب فى حدوثها . ويعتقد أن الخلايا تتحرك وهى داخل غلاف envelope من المواد الهلامية . وقد إقترح البعض أن بعض البكتيريا الهلامية تتحرك بواسطة أعضاء للحركة موجودة داخل الخلية وهذه الأعضاء عبارة عن لويفات fibrils وقد يكون لها إتصال بنقط طرفية وتمتد هذه اللويفات على إمتداد الخلية (شكل ٤١) ، وعموما فإن آلية الحركة فى هذه الكائنات غير معروفة تماما .

حركة الإسبيروكيتات Spirochaetes

الإسبيروكيتات بكتيريا وحيدة الخلية وجدارها مرن وحلزونية والخلية تتكون من إسطوانة بروتوبلازمية تضفر intertwined مع واحد أو أكثر من اللويفات المحورية axial fibrils ، والتى تنشأ من أقراص



تحت طرفية توجد عند كلا طرفى الإسطوانه البروتوبلازمية . اللويفات المحورية تماثل الأسواط فى تركيبها وهى تمتد بين طبقتين هما جدار الخلية وغلاف sheath خارج الخلية وهذا الغلاف يغطى اللويفة ويتكون من مواد الجدار الخلوى . كما أن هذا الغلاف يميل لأن ينفصل بسهولة عن الجدار. الأطراف غير المتصلة لهذة اللويفات المحورية قد تمتد خارج طرف الإسطوانه البروتوبلازمية معطية مظهر الأسواط الطرفية الكاذبة . وعادة تلتف اللويفات المحورية فوق بعضها فى الجزء الوسطى من الخلية .

شكل ٤١ : صورة تبين الألياف الموجودة فى داخل البكتيريا الهلامية Myxobacteria (عن Levy et al. 1973).

واللويفات المحورية تعتبر أعضاء الحركة فى الإسبيروكيتات وكما هو الحال فى الأسواط فإن الأساس الجزيئى لحركة اللويفات المحورية غير واضح تماما حتى الآن .

وتحدث الحركة التقدمية عن تموجات على طول الكائن . وأنه يحدث أيضا دوران Spinning على طول المحور الطولى للخلية . وشوهدت أيضا حركة دودية .

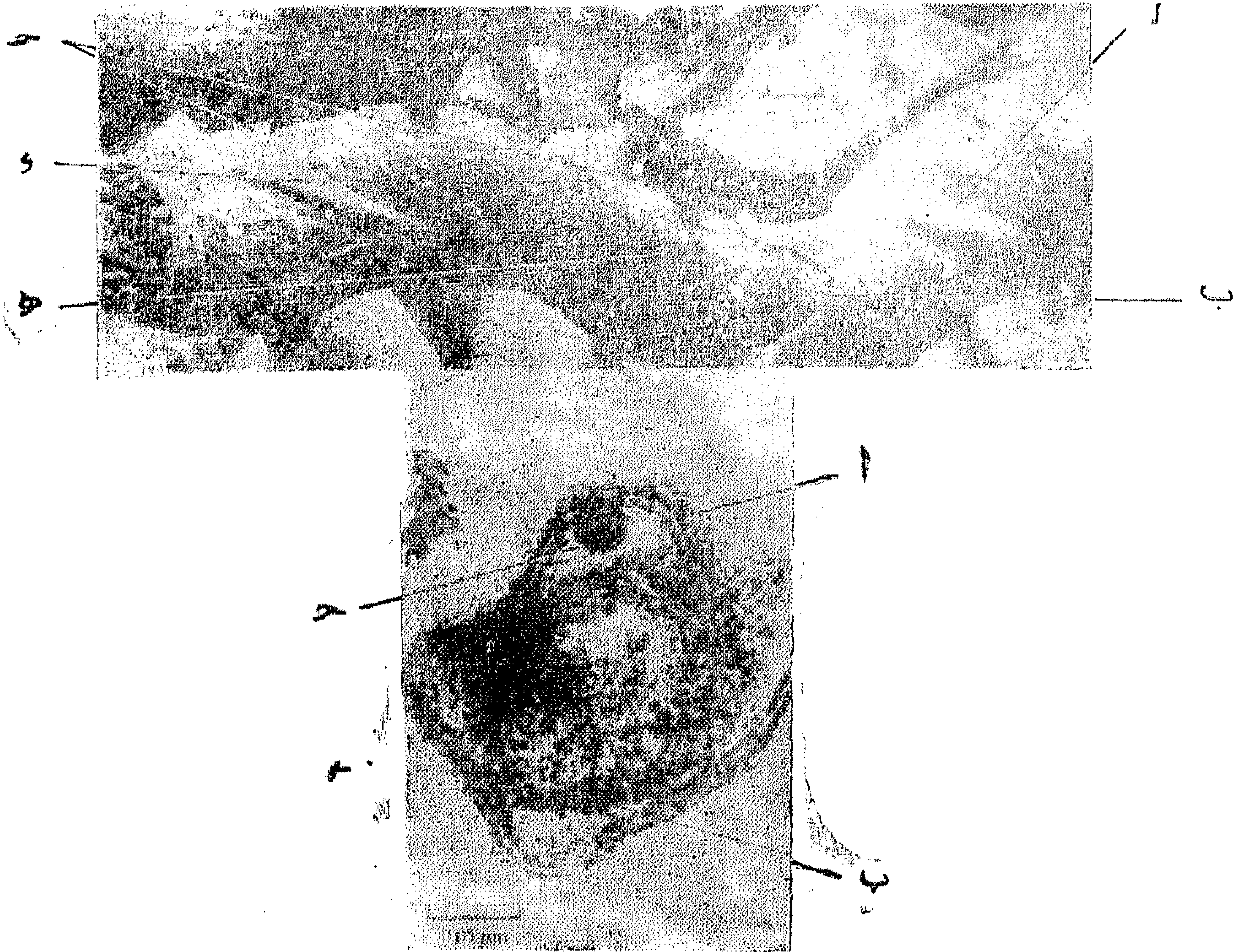
وقد وصفت فى هذه الكائنات ثلاثة طرز من الحركة :

١ — حركة دائرية سريعة على طول محور الخلية .

٢ — حركة دودية flexion .

٣ — تحرك الخلية نفسها بطريقة تشبة حركة بريمة نزع السدادات .

وقد تحمل بعض البكتيريات زوائد أخرى تختلف عن الأسواط منها :



شكل ٤٢ : الصورة العليا : صورة إلكترو ميكروسكوبية لخلية من الأسبيروكيتات تنتمى الجنس *Leptospira* تبين أ — لويفة محورية مغطاة بالغلاف ، ب — الغلاف ، حـ — جسم الخلية . د — لويفة محورية عارية ، هـ — جدار الخلية .

الصورة السفلى : صورة إلكترو ميكروسكوبية لقطاع عرضى لخلية تابعة للجنس *Leptospira* تبين : أ — الغلاف ، ب — الجدار الخلوى ، حـ — اللويفة المحورية . (عن Nauman et al.1969)

زوائد البيلى : Pili

تمتلك كثير من البكتيريا السالبة لجرام (ويبدو أيضا أن نوع واحد من الموجبه لجرام) زوائد خيطية غير الأسواط وهى أقصر وأكثر عددا من الأسواط وتكون غير متموجة وهى تظهر بالميكروسكوب الإلكترونى . وتسمى هذه الزوائد بالبيللى Pili (مفرد pilus) أو الفمبريا Fimbriae (شكل ٤٣) وهى تظهر فى البكتيريا المتحركة وغير المتحركة ولذلك فليس لها علاقة بالحركة . والبيللى pili تغطى سطح الخلية بأعداد تصل لعدة مئات (٢٥٠ — ٣٠٠) . وأن قطر الا pili قد يكون أكبر من قطر الأسواط ولكن فى المعتاد أقل من قطر الأسواط (٧ nm) . وهى مثل الأسواط تتكون من وحدات من البروتين تلتف حول تجويف محورى . وبعض الأنواع ذكر أنها من بروتين يسمى pilin . كما أنها يمكن أن تزال من الخلايا بالرج عن طريق خلاط دون أن يؤثر ذلك فى حيوية الخلايا .

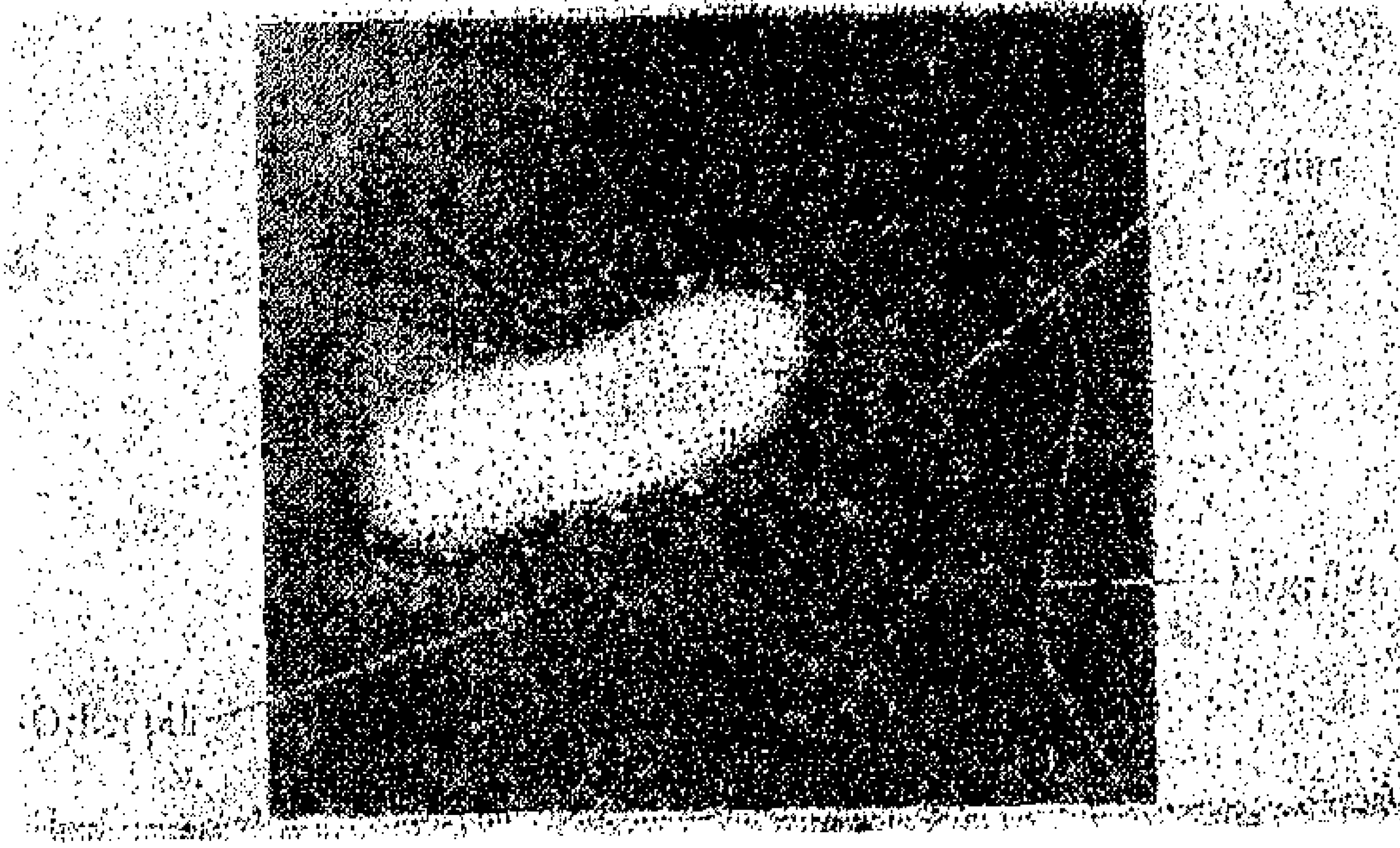
ويمكن تقسيم البيللى إلى عدد من الطرز بناء على وظيفتها .

فمثلا الا F.- pili (sex - pili) ، فتوجد فى البكتيريا *E.coli* وعددها يكون قليل ١ أو ٢ فى الخلية الواحدة . ويعتقد أنها هامة لتصبح الخلية معطية للمادة الوراثية فى التكاثر الجنسى فى البكتيريا . وهى تختفى عندما يزال العامل F وتعود للظهور عندما يوجد العامل F مرة أخرى . أى أن الإبيسوم (episome) ، الذى يتحكم فى الخصوبه الوراثية يتحكم أيضا فى إنتاج الا F-pili . ويعتمد نقل الكروموسوم من خلية لأخرى أثناء التزاوج على وجود F-pili . وإن كان من غير المعروف على وجه اليقين أن إنتقال الكروموسوم من الخلية المعطيه (الواهبة) إلى الخلية المستقبلة يكون خلال الا pilus . ومن المحتمل أن الا pilus يكون ضرورى فقط فى تقارب أو تصاحب الخليتين أثناء التزاوج .

ويعتقد أن أنواع أخرى من البيللى قد تكون أعضاء للإلتصاق فإن سلالات البكتيريا التى تمتلك البيللى يكون لها صفه الإلتصاق بالخلايا الحيوانية

والنباتية، وكذلك السطوح الحاملة مثل السليلوز أو الزجاج . وقد يكون لها صفه تثبيت نفسها إلى الأنسجة الحيوانية التي يمكن أن تحصل منها على الغذاء .

وتوجد أيضا علاقه بين قدرة سلالات *Neisscria gonorrhoeae* لتسبب السيلان ووجود البيللى ، فتلتصق خلايا السلالات التي تمتلك البيللى بسهولة لكثير من أنواع الخلايا ذات النواة الحقيقية . ويبدو أن هذا الإلتصاق ضرورى لتكشف المرض نظرا لأن السلالات التي لا تمتلك البيللى تفشل في إحداث المرض .



شكل ٤٣ : البيللى pili الخاصة بالبكتيريا *Escherichia coli* . لاحظ أن السوط flagellum يعتبر أطول من الـ F - pili وكذلك الـ pili الأخرى other pili (× ١١٩٨٠) (عن Nester et al 1978) .

المراجع

Bisset, K.A. 1955. The Cytology and Lifehistory of Bacteria, 2nd. Ed. Lingstone, Edinburgh.

Duguid, J.P., Smith, G. Dempster, and P.N. Edwards. 1955. J. Pathol. Bacteriol. 70 : 335.

Houwink. A.L., and Van Iterson, W. 1950. Biochim. Biohys. Acta 5:10-44.

Klieneberger - Nobel, E.1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York 145 p.

Leifson, E., S.R. Carbart and M. Fulton. 1955. J. Bacteriol. 69 : 73.

Leifson, E. 1931. J. Bacteriol. 12:331.

Leifson, E. 1960. Atlas of Bacterial Flagellation. Academic Press, New York and London 171 p.

Levy, J., J. J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory. Microbiology. John Wiley and Sons, INC, New York. 684 p.

Nauman, R.K., S.C. Holt, and C.D. Cox. 1969. J. Bacteriol 98 : 264

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. Micarty. 1978. Microbiology. Holt, Rihehart and Winston. New York. 769 p.

Mitchell, P. 1956. Proc. Roy. Phys. Soc. Edinburgh 25:32.

Pijper, A. and A.J. Nunn. 1949. J. Roy. Microscop. Soc. 69 : 138.

Pijper, A.M.L. Neser and G. Abraham. 1956. J. Gen Microbiol. 14 : 371.

Stocker, B.A.O. 1955. Symposium Soc. Gen. Microbiol. 6 : 19.

Stocker, B.A.O. J. Pathol. Bacteriol. 37 : 314.

Thimann, K.V. 1960. The Life of Bacteria. MacMillan Co. New York, 3ed printing, 775 p.

Vaituzis, Z. and R.N. Doetsch. 1969. J. Bacteriol. 100 : 512.

Weibull, C. 1953. J. Bacteriol. 66 : 696.

Weibull, C. 1960. Movement in The bacteria vol. I. (J.C. Gunsalus and R.Y. Stanier. cds.) Academic press. N.Y. and London.

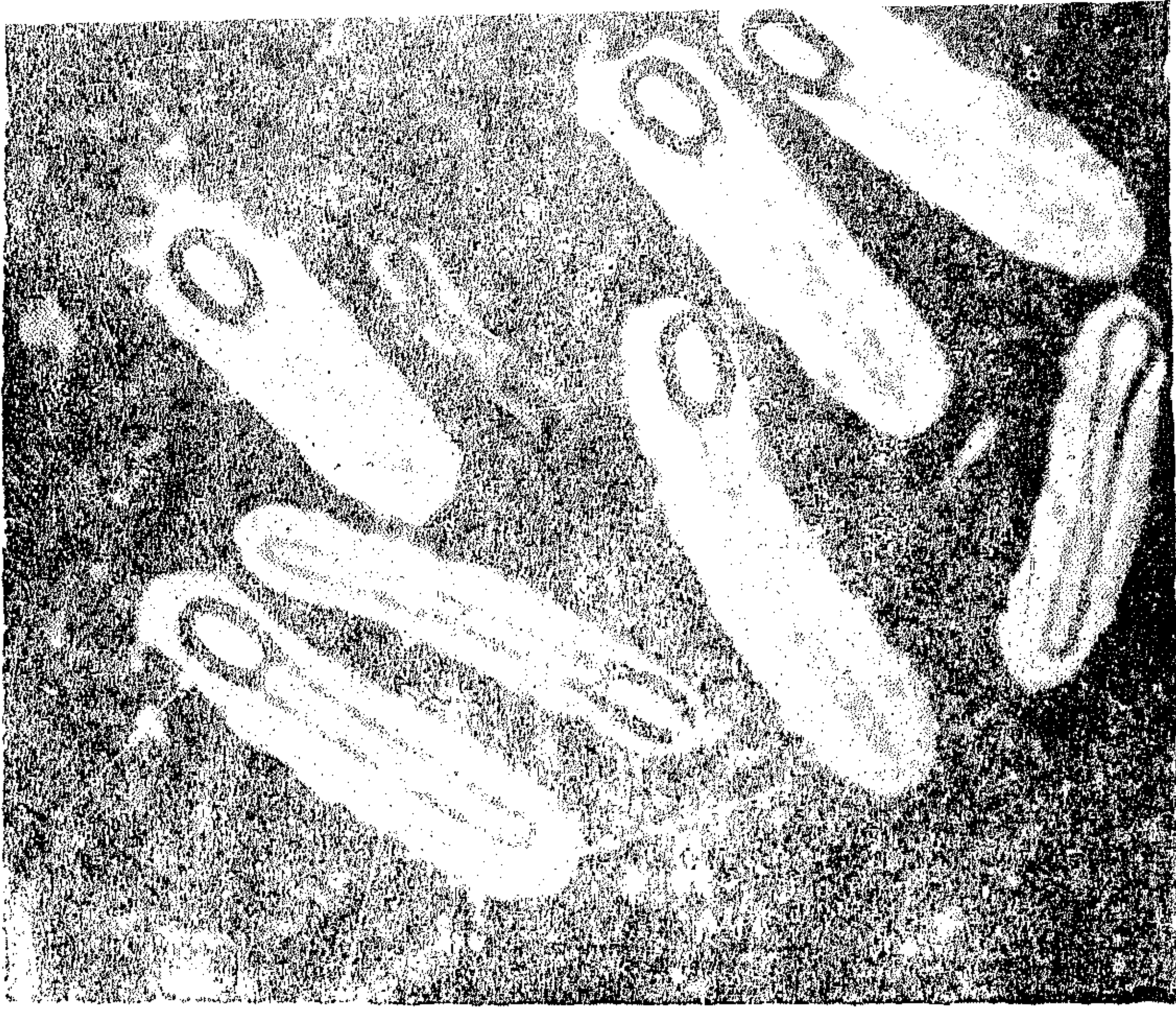
الفصل الرابع

الجراثيم الداخلية Endospores

بعض البكتيريات العصوية المستقيمة من جنسى *Bacillus* و *Clostridum* (شكل ٤٤) لها القدرة على إنتاج جراثيم داخلية ، جرثومة واحدة بكل خلية. كما وأن بعض البكتيريات الكروية *Sporosarcina* يمكنها أيضا إنتاج هذا النوع من الجراثيم. ويلاحظ أنه توجد بكتيريات أخرى كبيرة الحجم نسبيا تكون جراثيم داخلية ،وهى تعيش فى المحتويات المعوية للحيوانات . فشوهدت أجساما بيضية كبيرة الحجم تشبه الجراثيم الداخلية فى خلايا خيوط trichomes البكتيريا *Oscillospira guilliermondi* ، والتى تعيش فى أجسام أرانب التجارب والخيوط تتحرك بسرعة بأسواط جسمية ، وغالبا تتكون بالخلية الواحدة جرثومتان أو اكثر . وقد لوحظ أيضا فى البكتيريا *Metabacterium polyspora* ، والتى تعيش فى أمعاء الحيوانات الصغيرة مثل الفئران والأرانب وخنازير غينيا أن كل خلية خضرية بها عدد من الجراثيم قد تصل إلى ٨ جراثيم (شكل ٤٥) .

وكما ذكرنا فإن البكتيريا المتجرثمة التابعة للجنس *Bacillus* ،والجنس *Clostridium* ، تكون جرثومة واحدة لكل خلية خضرية وهذا لا يعتبر تكاثرا ، أما إذا تكونت أكثر من جرثومة فى الخلية الواحدة كما فى بعض الأجناس مثل الـ *Metabacterium* فيمكن إعتبار ذلك نوعا من التكاثر .

والبكتيريا المتجرثمة لها القدرة على تحويل نفسها إلى أجسام بيضية أو كروية تعرف بالجراثيم الداخلية Endospores وذلك لوجودها بداخل الخلية . وتتميز هذه الجراثيم بقدرتها الفائقة على كسر الضوء ومقاومتها للصبغ بصبغات الأنيلين القاعدية والتى تصبغ الخلايا الخضرية بسهولة ولذلك فإن لها طرقا خاصة لصبغها . وللجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزة مثل مقاومتها للظروف البيئية غير الملائمة للخلايا الخضرية كمقاومتها للحرارة



شكل ٤٤ : خلايا البكتيريا *Clostridium pectinovorum* ، لاحظ إزدياد حجم الخلية عند موضع الجرثومة الطرفي . لاحظ زيادة إفراز الخلايا لطبقة الغلاف والتي تتكون من عديدات الببتيد . (عن Gunsalus and Stanier 1961).



شكل ٤٥ : صورة ميكروسكوبية لخلايا البكتيريا *Metabacterium polyspora* الكبيرة الحجم والتي تحمل كل منها عديد من الجراثيم الداخلية (× ٣٨٠٠) . (عن Gunsalus and Stanier 1961)

العالية وبعض الإشعاعات ذات الموجات القصيرة والتركيزات المرتفعة نسبيا من المواد الكيماوية السامة ، وكذلك مقاومتها للجفاف وقدرتها على السكون dormancy لمدد طويلة . وبعض الجراثيم الداخلية مقاومة للحرارة المرتفعة فيلزم لتحطيمها حرارة تصل إلى ١٢٠ م (بخار تحت ضغط) لمدة ٣ ساعات ، إلا أن معظم أنواع الجراثيم تقتل بالحرارة الرطبة عند ١١٥—١٢٠ م لمدة ١٥—٢٠ دقيقة وقليل من جراثيم الأنواع المتجرثمة تقتل بالغليان لمدد قصيرة كما أن منها ما تقتل بالتعريض إلى ٥٨—٦٠ م لمدة ٣٠ دقيقة .

وعموما فإن الجراثيم يمكن إعتبارها مرحلة ساكنة للخلية الأم Dormant (resting) phase . وهى تستطيع أن تعيش لعشرات السنين فى غياب مصدر غذائى خارجى نظرا للإنخفاض الشديد أو لإنعدام نشاطها الأيضى. وعندما يتوفر للجراثيم وسط غذائى مناسب فإنها تنبت وتتكون خلية خضرية عادية قادرة على النمو والإنقسام الخلوى .

ومقاومة الجراثيم للحرارة تتيح الفرصة لعزل البكتيريا المتجرثمة بطريقة إنتخابية من المصادر الطبيعية ، وذلك عن طريق بسترة محاليل مائية من المصدر الطبيعى وهذا يقضى على الخلايا الخضرية تاركا الجراثيم .

وفيما يلى الخواص الهامة للأجناس البكتيرية التى تكون جراثيم داخلية :

الجنس	شكل الخلايا	علاقتها بالأوكسوجين
Bacillus	عصويات	هوائى أو غير هوائى إختيارا
Clostridium	عصويات	معظم السلالات غير هوائية .
Sporolactobacillus	عصويات	تتطلب ضغط منخفض من الأوكسوجين Microaerophilic
Desulfotomaculum	عصويات أو عصويات منحنية	غير هوائى إجبارا
Sporosarcina	كرويات (وهى متحركة أيضا)	هوائى إجبارا

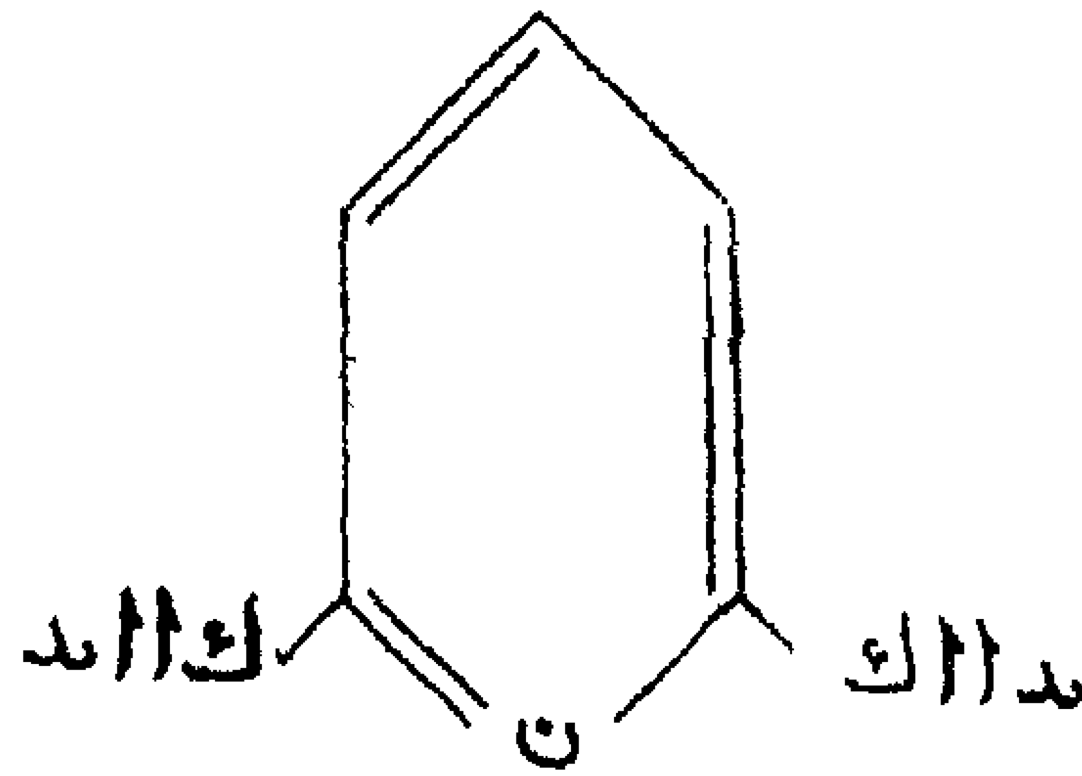
التركيب الداخلي للجرثومه :

إذا أجريت قطاعات غاية فى الرقة ultra - thin sections فى أحد الجراثيم وفحصت بالميكروسكوب الإلكترونى (شكل ٤٦ وشكل ٤٧) يظهر فيها التراكيب الآتية من الداخل إلى الخارج .

الخلية الجرثومية germ cell : تحتوى على سيتوبلازم الجرثومة وعادة تحتوى على كروموسوم واحد وبعض الريبوسومات والإنزيمات ويحاط بغشاء داخلى inner membrane .

جدار الجرثومة spore wall : وتركيبة من الميوكوببتيد . وهذا الجدار سيصبح الجدار الخلوى للخلية الخضرية الجديدة عند إنبات الجرثومة ،

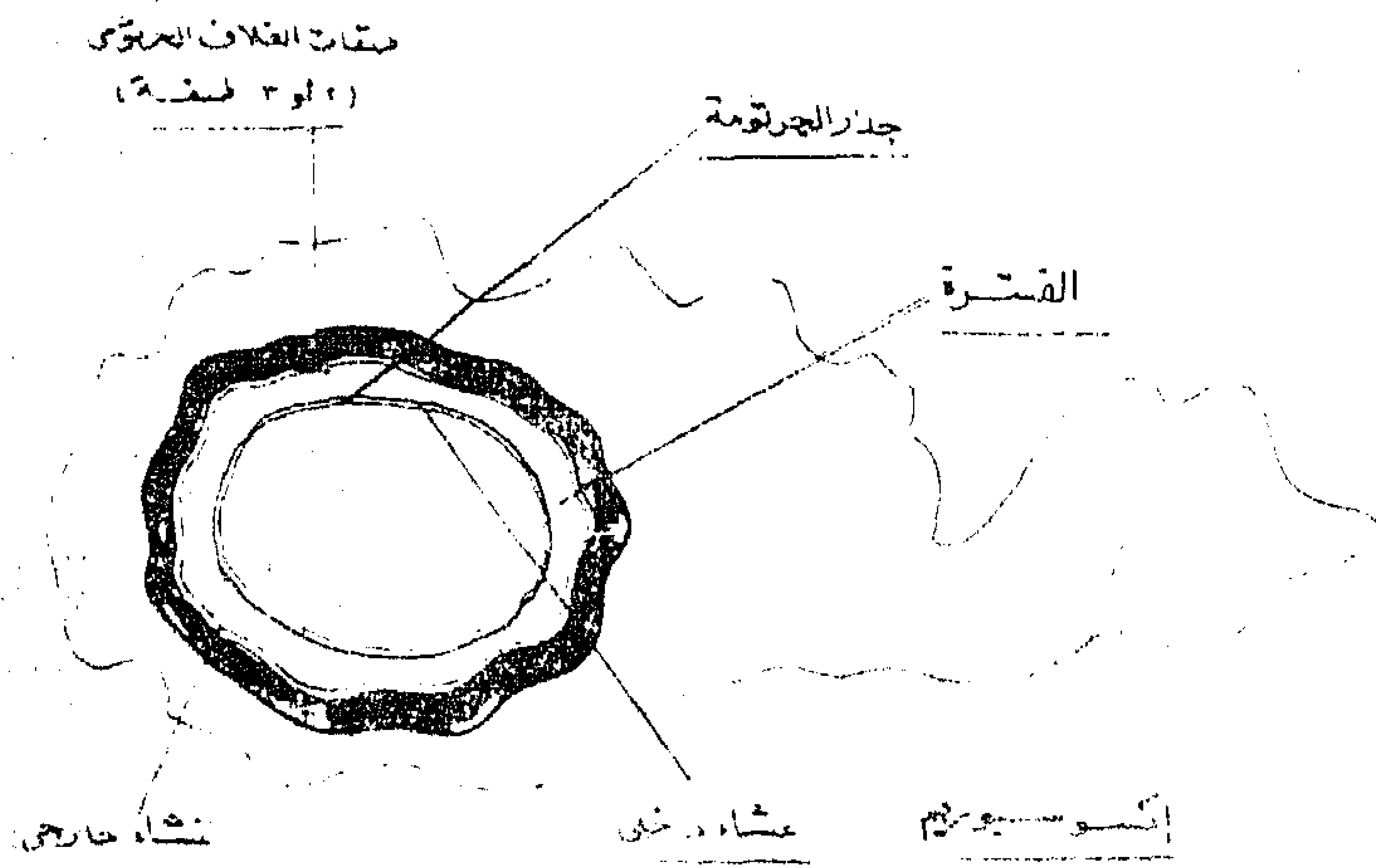
القشرة cortex : وتكون نصف حجم الجرثومة وتحتوى على داى بيكولينات الكالسيوم Calcium dipicolinate مختلطة بالميوكوببتيد: وهذا الخليط يمكن تحللة بإنزيم الليزوزايم . وطبقة القشرة هى التى تمنح الجرثومة المقاومة للحرارة لإحتوائها على تركيز عالى من ملح الكالسيوم المذكور بنسبة تتراوح بين ٢-١٥٪ من الوزن الجاف للجرثومة . ويلاحظ أن كل الجراثيم تحتوى على كميات من حمض الداى بيكولينيك فى حين أن هذه المادة لا توجد فى الخلايا الخضرية. وكذلك توجد كمية كبيرة من الكالسيوم فى الجراثيم . ويبدو أن بناء هذا الملح المعقد يتم خلال المراحل المتقدمة من تكشف الجرثومة .



حمض الداى بيكولينيك



شكل ٤٦ : قطاع طولى فى جرثومة البكتيريا *Bacillus cereus* محاطة بأكسوسبوريم كبير (exsp) . يلاحظ أن الغلاف الجرثومى (coat) ضيق ومجعد ويحيط بالقشرة (ctx) .



شكل ٤٧ : رسم تخطيطى لقطاع عرضى فى جرثومة يبين التراكيب المختلفة للجرثومة .

الغشاء الخارجى outer membrane : وهو غشاء يحيط بالقشرة من الخارج .

الغلاف الجرثوى spore coat : يعطى للجرثومة شكلها وقد يظهر على سطح الغلاف تجاويف أو أخاديد طولية أو عرضية أو إنخفاضات عميقة تبعا لنوع البكتيريا المتجرثمة (شكل ٤٨ وشكل ٤٩) . والغلاف قد يتكون من طبقتين أو ثلاث طبقات وهو يحمى الجرثومة من فعل الإنزيمات المحللة . ويتركب الغلاف بطبقاته من عديد الببتيد والبروتين المقاوم لفعل الإنزيمات المحللة للبروتين وكذلك الليزوزايم . ويلزم وجود السيستين cystine فى البيئة لتخليق الغلاف الجرثومى .

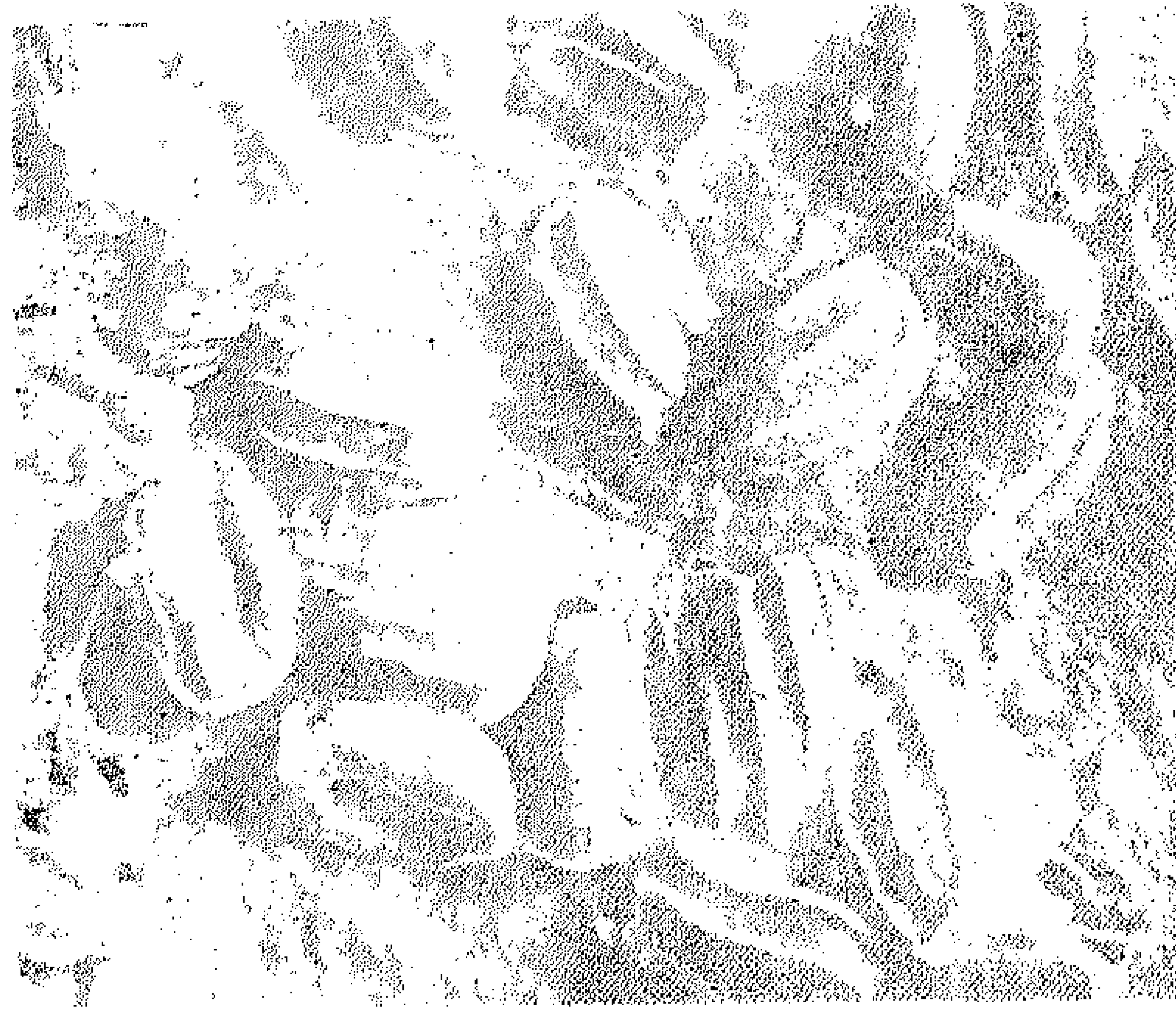
الإكسوسبوريم exosporium هو طبقة أو تركيب خارجى تظهر فى شكل غشاء رقيق قد يكون ملاصق للجرثومة أو سائبا وغير ملاصق لها وهو غير منفذ لكثير من المركبات ويحتوى على بروتين دهنى lipoprotein وكذلك سكريات أمينية .

موضع الجرثومة من الخلية :

الجراثيم الناضجة mature spores تكون عادة كروية أو بيضية ويلاحظ أن موضع وجود الجرثومة بالنسبة للخلية الخضرية التى إشتقت منها يختلف فى البكتيريا المتجرثمة ، فقد تكون فى الطرف terminal أو فى الوسط أو المركز Central أو تحت طرفية Subtermina l (شكل ٥٠) . كما أن قطر الجرثومة قد يكون أكبر أو أصغر من قطر الخلية الخضرية وسمك جدر الجرثومة قد تختلف أيضا بإختلاف الأنواع . وكل ذلك من الصفات الهامة التى تستعمل فى تقسيم الجنس (مثل الجنس *Bacillus*) إلى أنواع مختلفة .

خطوات تكوين الجراثيم الداخلية :

إن عملية تكوين الجراثيم (شكل ٥١) تحدث على عدة خطوات ويبدو



شكل ٤٨ : صورة الكتروسيكروسكوبية تبين بعض جراثيم البكتيريا . *Bacillus polymyxa*.لاحظ التجاويف الطولية المتوازية والتي تميز سطحها الخارجي. (×٦٢٥٠) (عن Klieneberger-Nobel 1965)



شكل ٤٩ : صورة بالميكروسكوب الإلكتروني لجراثيم البكتيريا *Bacillus megaterium* يلاحظ نظام الإرتفاعات والإنخفاضات الموجود على سطح الجراثيم والذي يشبه لحد ما العيون السداسية في أقراص عسل النحل .

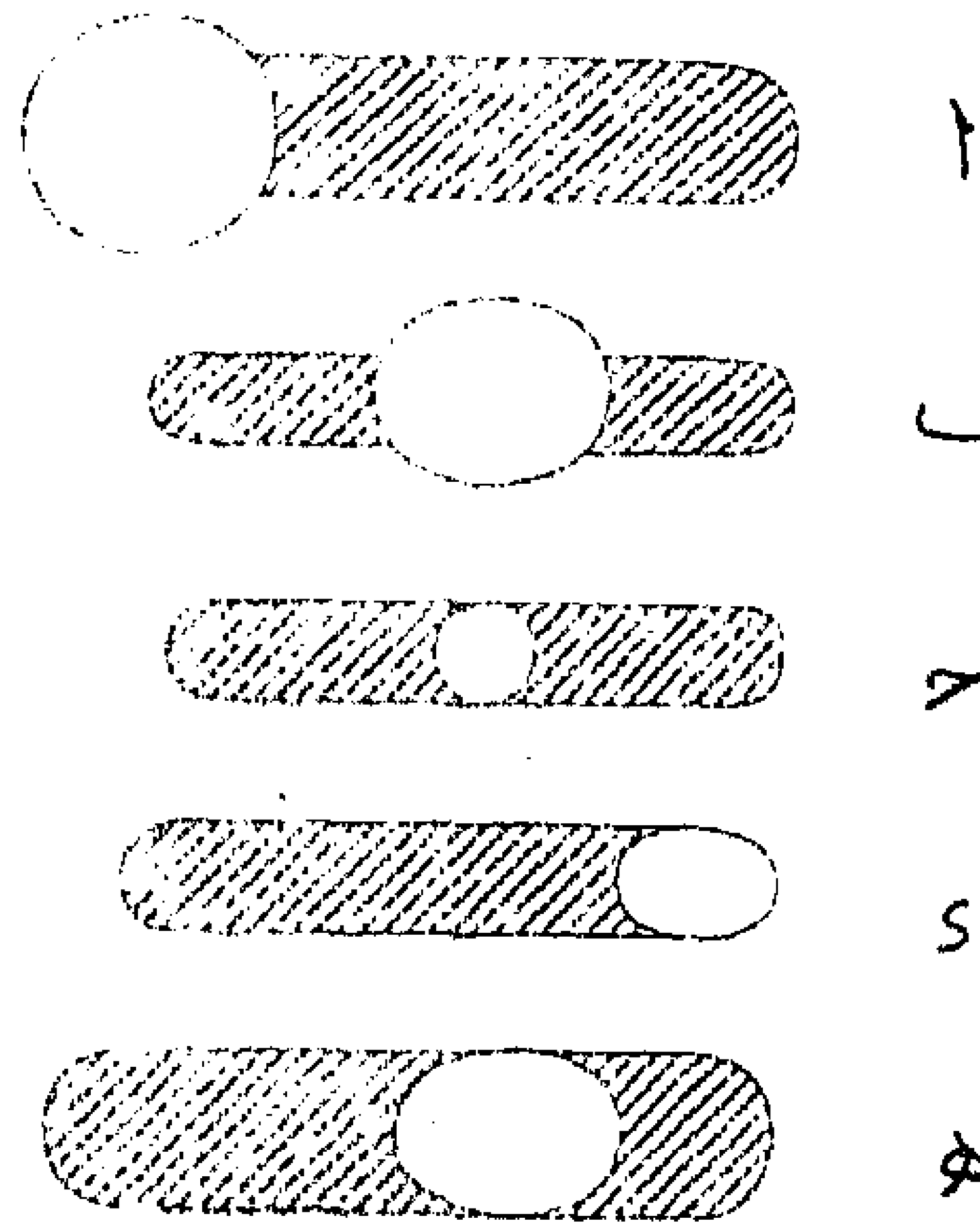
أن الوقت الكلى لتكوين الجراثيم يستغرق تقريبا ٨ ساعات . ويلاحظ أنه لا يحدث تكرار كروموسومى خلال عملية التجرثم وهى بذلك تختلف عن إنقسام الخلية . وفيما يلى وصفا مختصرا لهذه الخطوات :

١ — يتحول الـ DNA إلى خيط طويل وهذا الخيط يتصل بالغشاء الخلوى بواسطة الميزوسوم .

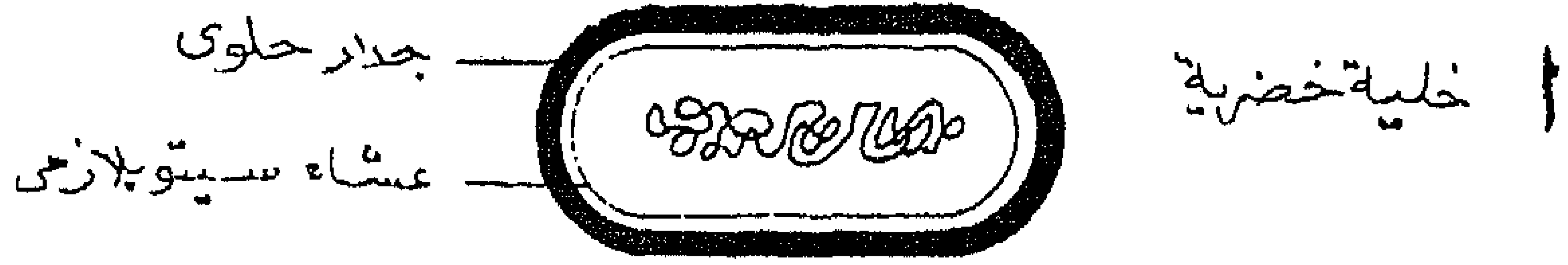
٢ — ينفصل الـ DNA إلى كروموسومات فردية أحدهما يذهب إلى طرف الخلية .

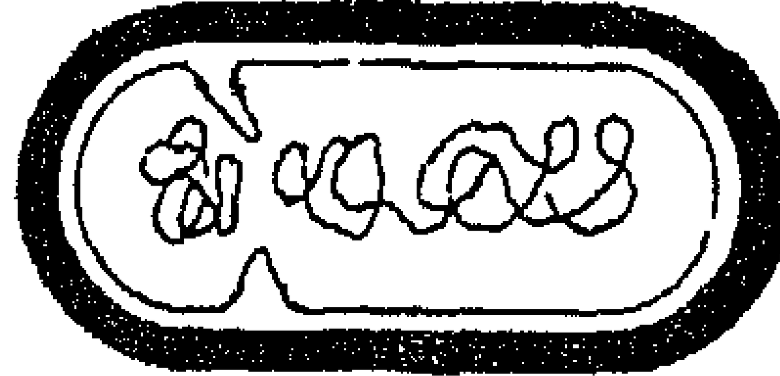
٣ — ينمو الغشاء الخلوى من الخلية الأم حول الجرثومة المتكشفة والتى تحاط بغشاء مزدوج .

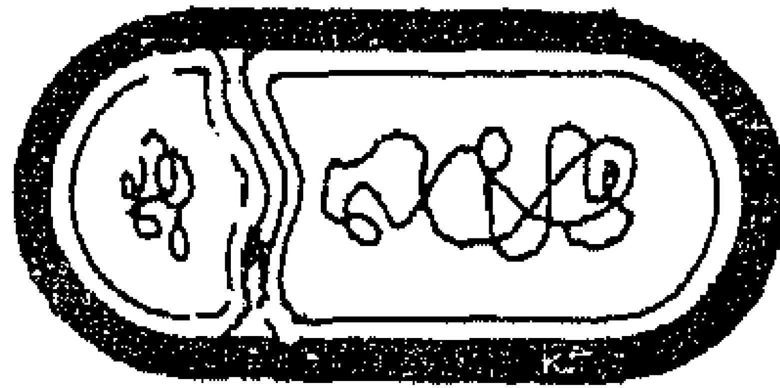
٤ — تتكون القشرة cortex من الميوكوببتيد بين الغشائين . يتم تخليق حمض الداى بيكولينيك dipicolinic acid ويتم أخذ أيونات الكالسيوم كا++ والسيستين . ثم يتكون الغلاف الجرثومى بطبقاته المختلفة . ويبدأ تكوين الأكسوسبوريم وتصبح الجراثيم المتكشفة قادرة على كسر الضوء

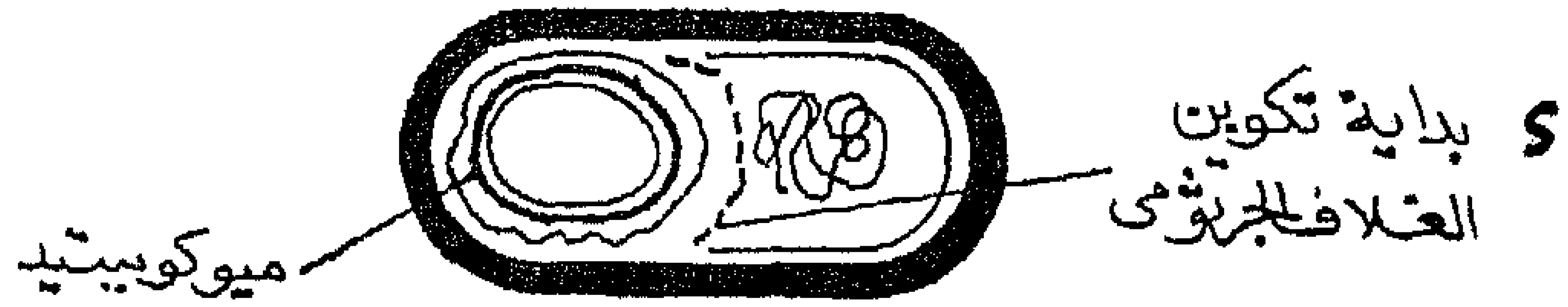


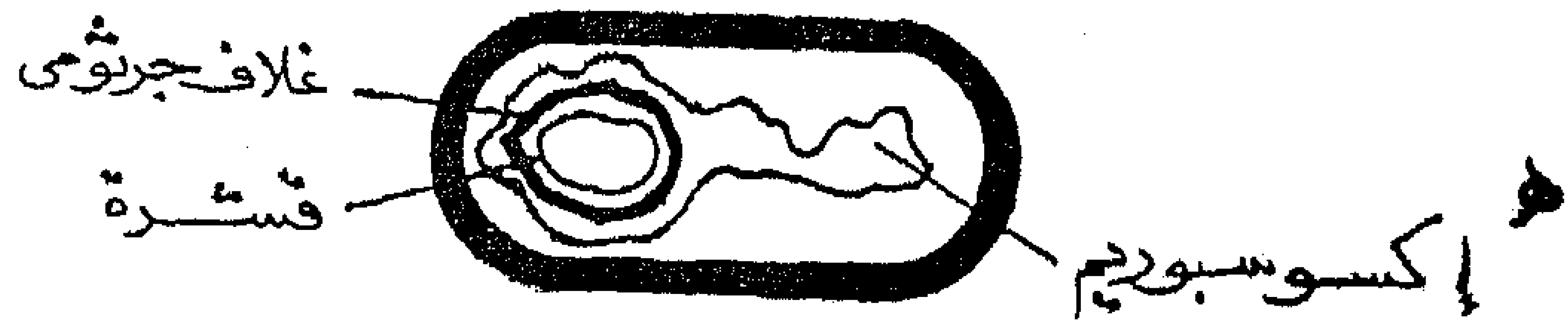
شكل ٥٠ : رسم تخطيطى يبين موضع وحجم وشكل الجراثيم الداخلية .
(أ) طرفية دائرية منتفخة . (ب) وسطية بيضية منتفخة .
(حـ) وسطية دائرية . (د) طرفية بيضية
(هـ) تحت طرفية بيضية .

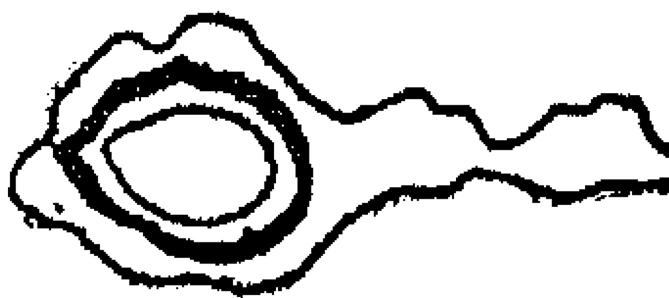












رسم تخطيطى يبين خطوات تكوين الجرثومة الداخلية .

(ا) يتحول الـ DNA إلى خيط طويل .

(ب) أحد الكروموسومات يذهب إلى طرف الخلية .

(ب ، حـ) ينمو الغشاء الخلوى من الخلية الأم حول الجرثومة المتكشفة والتى تحاط بغشاء مزدوج .

(د) تتكون القشرة من الميوكوبيتيد بين الغشائين ويبدأ تكوين الغلاف الجرثومى .

(هـ) تسمك طبقات الغلاف الجرثومى

(و) بقايا الخلية تتحلل وتتحرر الجرثومة .

٥ — تسمك طبقات الغلاف الجرثومى وتتكون الإنخفاضات أو الأخاديد (شكل ٤٨ وشكل ٤٩) وتصبح الجراثيم مقاومة للحرارة والأوكتانول octanol وذات قدرة عالية على كسر الضوء ومقاومة للصبغ .

٦ — بقايا الخلية تتحلل وتتحرر الجرثومة .

الأجسام المصاحبة للجراثيم : parasporal bodies

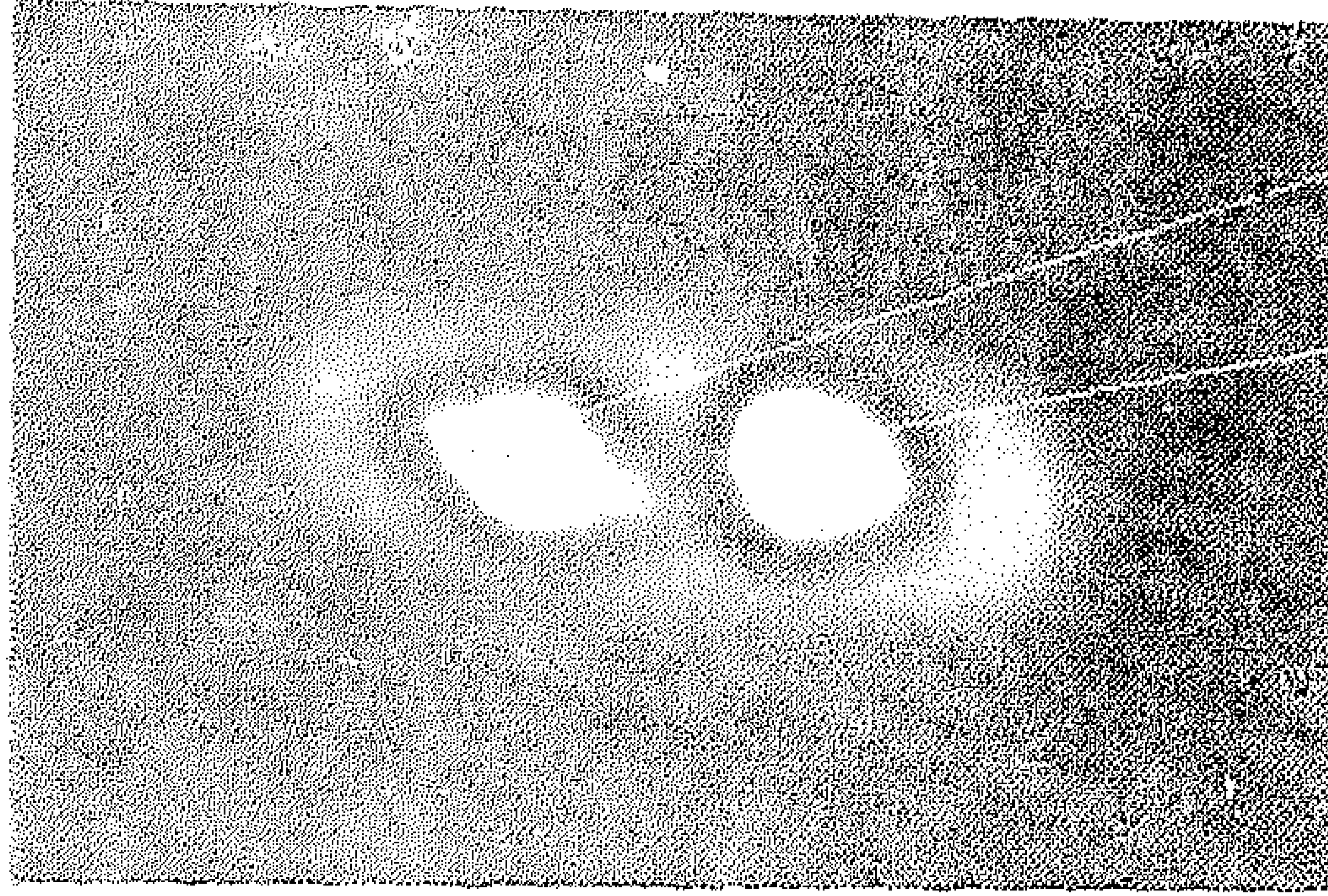
قد يصاحب عملية التجرثم داخل الكيس الجرثومى Sporangium تخليق أجساما بلورية يطلق عليها الجسم المصاحب للجراثيم parasporal body فى حالة الخلايا المتجرثمة من البكتيريا *Bacillus thuringiensis* تحتوى على بلورة بروتينية مثمنه الشكل octahedral (شكل ٥٢ وشكل ٥٣) ويلاحظ أن كل خلية متجرثمة تحتوى على جسم واحد فقط من هذه الأجسام . وهذه الأجسام بعكس الجراثيم الداخلية تصبغ بسهولة وهى لا تحاط بأى غشاء أو غطاء . وقد وجد أن كميات ضئيلة من هذه المكونات البلورية تعتبر سامة جدا لكثير من الحشرات وتسبب شللا لها وتستعمل حاليا هذه البلورات وجراثيم البكتيريا *B. thuringiensis* فى المقاومة الحيوية biological control لبعض أنواع الحشرات .

وتتكون أيضا أجساما مصاحبة مختلفة فى كثير من الانواع المتجرثمة منها *Bacillus medusa* حيث تكون هذه الأجسام أكبر حجما من الجراثيم المرافقة (شكل ٥٤) وأنها تصبغ بسهولة فى حين تظل الجراثيم بدون صبغ ويلاحظ فى البكتيريا *Bacillus laterosporus* التى تعزل فى بعض الأحيان من يرقات نحل العسل وأيضا من التربة والمياه أن الجراثيم تكون محاطة بجسم خارجى بشكل القارب Canou يصبغ بعمق فى حين تبقى الجرثومة دون صبغ (شكل ٥٥) .

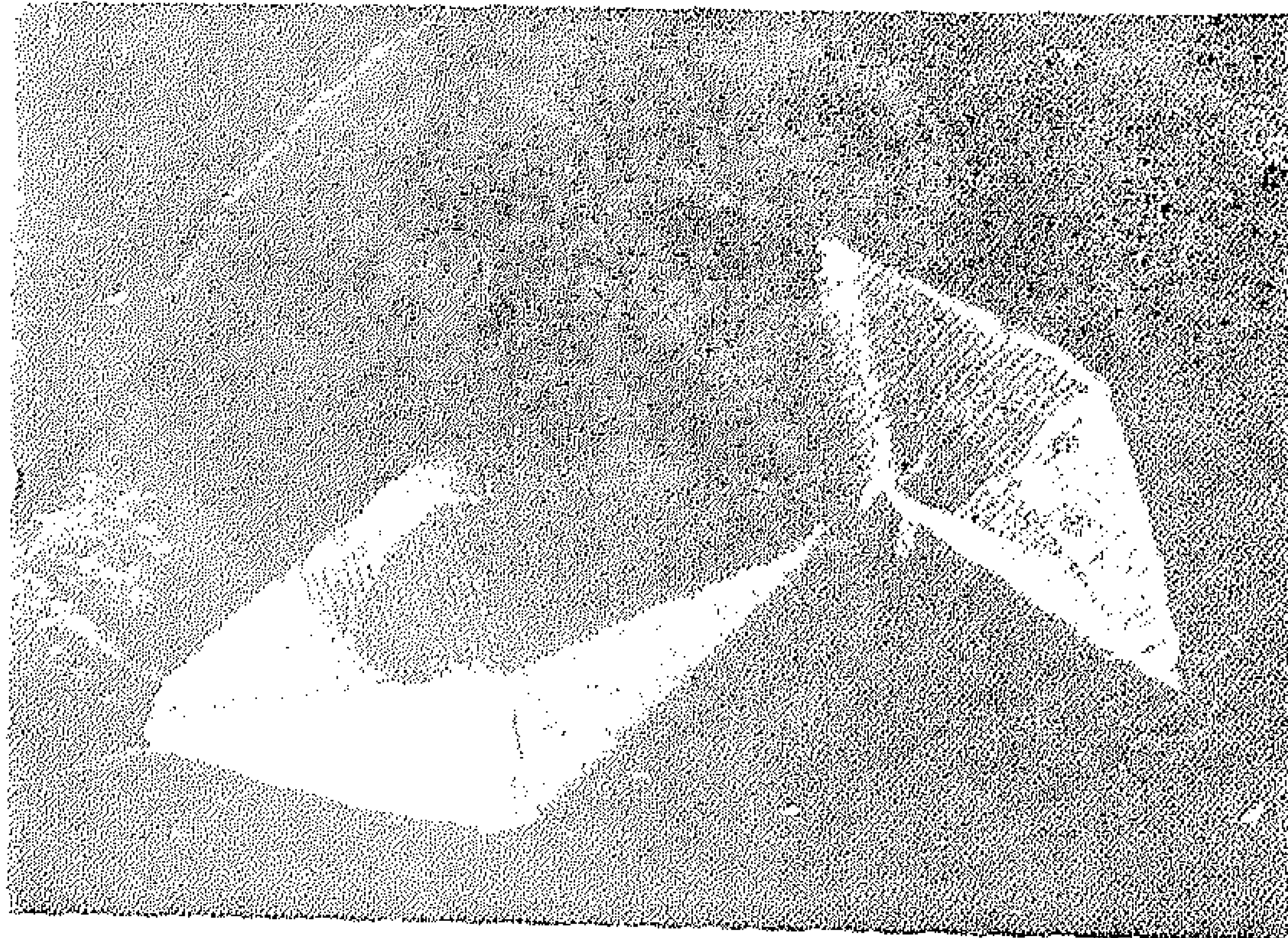
فسيولوجيا التجرثم :

للجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزه ، مثل مقاومتها للظروف

البيئية عن الخلايا الخضرية ومقاومتها للحرارة العالية وبعض الإشعاعات ذات الموجات القصيرة والمواد الكيماوية السامة والجفاف ويمكنها أن تبقى ساكنه لمدة طويلة . ويبدو أن التجرثم يبدأ عندما تعانى الخلايا نقصا غذائيا ، فوجود



شكل ٥٢ : صورة ميكروسكوبية للجسم البللورى المصاحب لجراثيم البكتيريا *Bacillus thurin giensis*
(أ) بللورة بروتينية (الجسم المصاحب) (ب) الجرثومة الداخلية .
(عن Nester et al. 1978) .



شكل ٥٣ : صورة إلكتروميكروسكوبية للجسم البللورى المصاحب لجراثيم البكتيريا *Bacillus thuringiensis* لاحظ أن الجسم البللورى معين الشكل ذو ثمانى أضلاع (× ٢٠٠٠٠)
(عن Klieneberger - Nobel 1965) .

الجلوكوز (مصدر الطاقة) بالبيئة يصاحبة دائما تثبيط لعملية التجرثم . ولوحظ أيضا أنه عندما يكون النيتروجين (مصدر البناء) المتاح محدودا تزداد فرصة حدوث التجرثم . ولوحظ أيضا أن نقص الألانين ينبه حدوث التجرثم فى بعض سلالات البكتيريا *Bacillus mycoides* .

وعلاوة على التغذية فإن للتهوية أثر أيضا فى عملية التجرثم فقد لوحظ أن



شكل ٥٤ : صورة ميكروسكوبية تبين سلاسل من خلايا البكتيريا *Bacillus medusa*. لاحظ الجراثيم اللامعة المشار إليها (أ) وكذلك الأجسام المصاحبة (ب) . لاحظ أنه توجد بكل خلية جرثومة واحدة وجسم مصاحب واحد (× ٤٠٠٠) . (عن Klieneberger - Nobel 1965)

نقص الأوكسوجين يسبب تجرثم بعض سلالات البكتيريا *Bacillus megaterium* . وهناك بعض المواد غير التى ذكرت والتى يلزم توفرها فى البيئة ليحدث التجرثم فبعض الأنواع تحتاج إلى مصدر من أيونات الكالسيوم، على حين أن *Bacillus subtilis* تحتاج إلى مصدر لأيونات المنجنيز .

وقد عزى السبب فى مقاومة الجراثيم للحرارة إلى قلة محتواها المائى وكذلك إلى أن الماء الموجود بها يكون فى صورة مرتبطة بالبروتينات الغروية



شكل ٥٥ : صورة ميكروسكوبية لخلايا البكتيريا *Bacillus laterosporus* لاحظ الجراثيم اللامعة (أ) وأن كل جرثومة تكون محاطة بجسم مصاحب (ب) يتخذ شكل القارب (× ٥٥٠٠) . (عن Klieneberger - Nobel 1965)

وليس حرا كما هو الحال فى الخلايا الخضرية . إلا إنه يعتقد حاليا كما سبق أن بينا أن مقاومة الحرارة تعزى إلى وجود ملح الكالسيوم لحمض الداى بيكولينيك .

ولوحظ أيضا أن الجراثيم تحتوى على تركيز عال من السيستين بدرجة أكبر منها فى الخلايا الخضرية ووجد أن السيستين ضرورى لتخليق الغلاف الجرثومى الذى يحمى الجرثومة من المؤثرات الخارجية .

ومن الإنزيمات التى وجد أن لها نشاطا يربو على نشاطها فى الخلايا الخضرية الإنزيم المعروف باسم الألانين راسيماز alanine racemase .

والسؤال الآن هل تختلف الإنزيمات فى الجرثومة عن الإنزيمات فى الخلايا الخضرية ؟ لوحظ نوعين من الإختلافات :—

التحوير الأول : تحوير الإنزيمات الخضرية لتعطى إنزيمات جرثومية فمثلا إنزيم الألدوليز aldolase المحضر من الجراثيم يكون أكثر مقاومة للحرارة عن الإنزيم المحضر من الخلايا الخضرية .

التحوير الثانى : وهو إرتباط الإنزيمات بالمكونات الجرثومية . ويؤيد هذا الإفتراض عدم القدرة على عزل والتعرف على أنواع معينة من البروتينات فى الجراثيم .

التحكم فى التجرثم البكتيرى Regulation of bacterial sporulation

إن النظام الوراثى للخلية علاوة على الظروف البيئية المختلفة تلعب دورا هاما فى إحتفاظ الجرثومة بالطور الخضرى أو فى إقدامها على التجرثم . بمعنى أنه يتحكم فى عملية التجرثم عدد من الطرق المنظمة regulatory mechanisms. فهناك بعض العوامل الوراثية تعمل أو توقف عمل بعض العوامل الوراثية الأخرى ويصاحب التغيير السيتولوجى الذى يحدث عند تكوين الجرثومة تغييرا فى التركيب الكيماوى وكذلك فى إنزيمات الخلية الخضرية . فالكثير من الإنزيمات التى لم يمكن الكشف عنها فى الخلايا الخضرية تظهر خلال

مرحلة التجرثم . وعلى العكس من ذلك فإن كثيرا من الأنظمة الإنزيمية التى تميز الخلايا الخضرية توجد على مستوى منخفض جدا أولا توجد مطلقا فى الجراثيم . وبالإضافة لذلك فإن عدد كبير من المكونات التى لا توجد فى الخلايا الخضرية تظهر فى الجراثيم . كل هذه الحقائق تدل على أن كمية المعلومات الوراثية المتعلقة بعملية التجرثم لا يعبر عنها خلال النمو الخضرى . ويبدو أن هناك عدد ٥٠ من العوامل الوراثية المتعلقة بالتجرثم توجد على مواقع منفصلة على الكروموسوم فى الخلية البكتيرية .

والسؤال الآن ما الذى يجعل عوامل وراثية معينة دون الأخرى تتناسخ transcribe ؟ (أى تناسخ الـ RNA من الـ DNA) الإجابة غير معروفة تماما ولكن بعض البحوث الحديثة أظهرت الآتى :—

أولا : يبدو أن كل خطوة فى عملية التجرثم يلزم لها مشاركة خطوة سابقة لها . فمثلا إذا حدث قصور فى إنزيم معين لازم لعملية التجرثم فإن تكشف الجرثومة سيقف عند هذه المرحلة ولن يتم تخليق أى إنزيم فى مرحلة تالية من التكشف .

ثانيا : حدوث تحوير لإنزيم RNA Polymerase للخلايا الخضرية خلال عملية التجرثم . ويبدو أنه يحدث تحوير فى هذا الإنزيم فى الخلية المتجرثمة يجعل الخلية غير قادرة على نسخ العوامل الوراثية المصاحبة للنمو الخضرى ولكن يجعلها قادرة على نسخ العوامل الوراثية المصاحبة للتجرثم . وهذا يؤدى إلى وقف عمل بعض العوامل الوراثية المصاحبة للنمو الخضرى أثناء التجرثم وأن عوامل وراثية أخرى مصاحبة للتجرثم يبدأ عملها . ووجد أن الجلوكوز يمكن أن يحدث تثبيط أو منع repressing تخليق عدد من الإنزيمات المسئولة عن التجرثم .

إنبات الجراثيم :

عندما تقدم الجرثومة على الإنبات يحدث أن تفقد قدرتها على كسر

الضوء وتزداد قابليتها للصبغ بالطرق البسيطة كما تفقد قدرتها على مقاومة الحرارة ويتبع ذلك كله نقص فى وزنها الجاف . وفى الدراسات التى تمت على جراثيم بعض أنواع الجنس *Bacillus* ظهر أن الوزن الجاف للجراثيم يقل عند الإنبات بواقع ٣٠٪ من الوزن الجاف الأصلى للجرثومة . ويعزى هذا الفقد إلى إفراز وخروج بعض المواد الكيماوية المعينة من الجراثيم مثل أيونات الكالسيوم وحمض الداى بيكولينيك والميوكوببتيد . ورغما عن نقص الوزن الجاف للجرثومة إلا أنه يحدث زيادة فى حجمها ثم يتبع ذلك إنشقاق غلاف الجرثومة وإبتداء الطور الخضرى (شكل ٥٦) . والغلاف الجرثومى قد ينشق قطريا أو بالقرب من طرف الخلية (طرفيا) . والخلية الخضرية الناتجة عن الإنبات تواصل إنقسامها إذا ماكانت الظروف البيئية مناسبة لذلك. ومما لا شك فيه أن الظروف التى تنبت عليها الجراثيم البكتيرية هى نفس الظروف الموافقة للتكاثر الخضرى ، إلا إنه وجد أن بعض المعاملات الفيزيائية تنبه إنبات أنواع من الجراثيم . ومن المعاملات الفيزيائية المؤدية لذلك تسخين الجراثيم إلى ٦٠°م لمدة ساعة أودرجة ٦٥°م لمدة ٢ساعة أوالرج مع كرات زجاجية صغيرة (قطرها ٤٠ nm) أو المعاملة بمواد نشطة سطحيا surface active agents

ووجد أن إنبات بعض الجراثيم البكتيرية وخاصة التابعة للجنس *Clostridium* تتطلب وجود كمية كافية من غاز ك أ٢ فى الجو المحيط بها ، كما يتطلب وجود مستخلص الخميرة بالبيئة . وإنبات جراثيم البكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* لا يتطلب وجود جو من ك أ٢ ولكنه يتطلب وجود محاليل فوسفاتية وأحماض أمينية معينة . فقد وجد أن الحمض الأمينى ل — ألانين يشجع إنبات هذه الجراثيم وكذلك جراثيم *B. cereus* . كما أن وجود المشابه د— ألانين بتركيز بسيط (١ د— ألانين : ٣٠ ل — ألانين) يوقف الإنبات . وأن زيادة تركيز ل — ألانين يعيد الإنبات مرة أخرى . ولما هو معروف عن زيادة نشاط الإنزيم ألانين راسيماز alanine racemase فى الجراثيم عنه فى الخلايا الخضرية ، يمكننا إذن أن نتفهم دور الحمض الألانين

بصورتية د ، ل فى التحكم فى إنبات الجراثيم . وإن نسبة هذه المشابهات إلى بعضها تستغلها الجرثومة للتحكم فى الإحتفاظ بحالة السكون وأن أى إختلال فى هذه النسبة كالذى يحدث عند إضافة المشابه ل ــ ألانين يفسد التوازن ويؤدى إلى خروج الجرثومة عن سكونها .

ومن النقط المثيرة للإنتباه معدل التخليق النسبى للجزيئات الكبيرة (DNA و RNA و البروتين) بعد إبتداء الإنبات (شكل ٥٧) . فكما هو متوقع يبدأ تخليق الـ RNA أولا لإن بعض العوامل الوراثية يحدث لها تناسخ مبكرا .



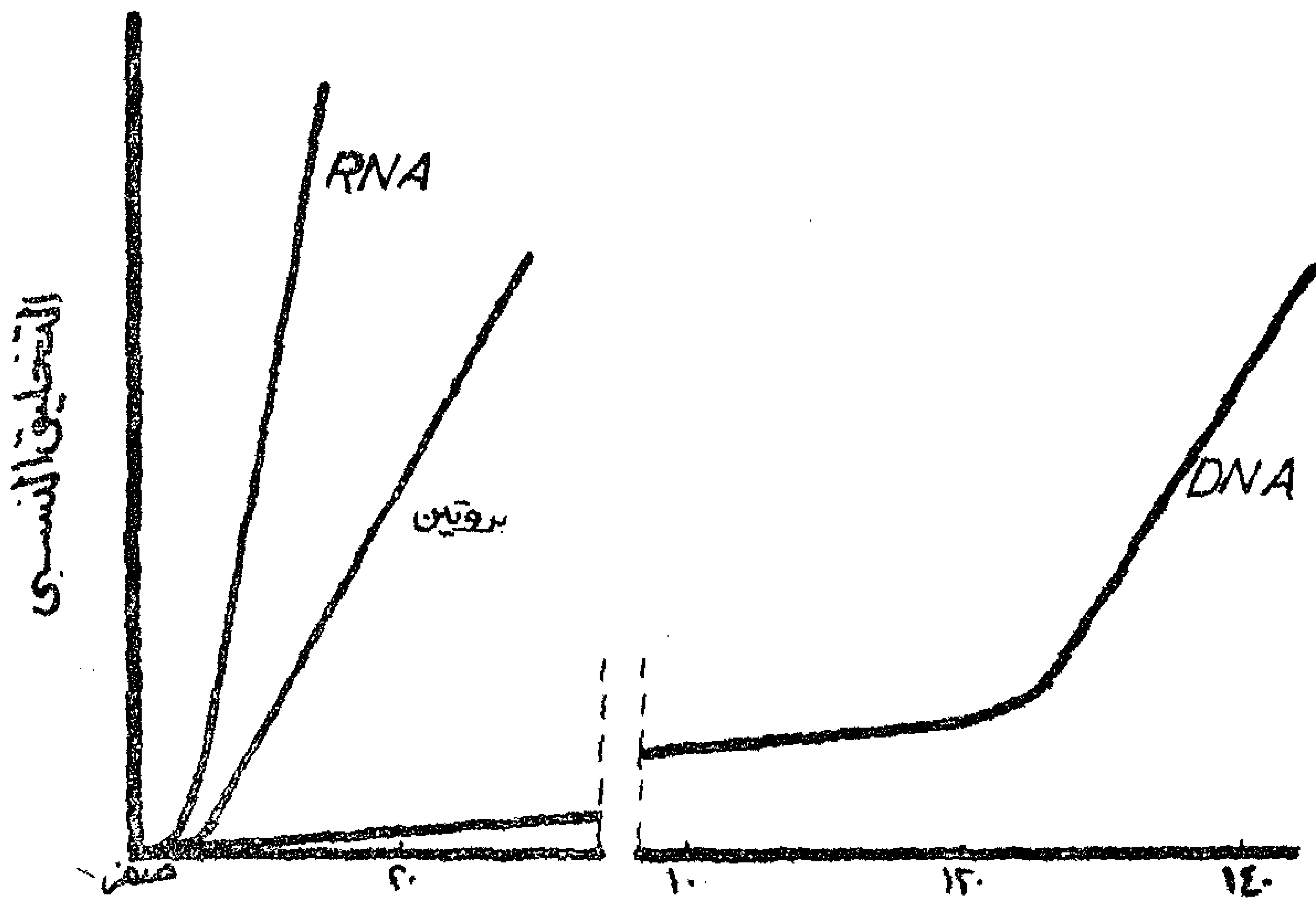
شكل ٥٦ : صور إلكترومیكروسكوبية توضح خطوات إنبات جراثيم *Bacillus mycoides* .

العليا إلى اليسار : الخلية الخضرية فى بداية إنبثاقها من الجرثومة .

العليا إلى اليمين : الخلية الخضرية تنمو .

السفلى إلى اليسار : إنشقاق الغلاف الجرثومى إلى جزئين .

السفلى إلى اليمين : تم إنبات الجرثومة . (عن Burrows 1973)



شكل ٥٧ : معدل التخليق النسبى للـ RNA والـ DNA والبروتين بعد إنبات جراثيم *Bacillus cereus* . (عن Levy et al. 1973)

المـــراجع

Bisset, K.A. 1955. J. Gen. Microbiol. 13 : 442.

Burrows, W. 1973. Tesctbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Conpany, Philadelphia. 1035 p.

Gunsalus, I.C. & R.Y. Stanier. 1961 (eds.) The Bacteria, vol. I : Structure, (Morphology of bacterial spore. Their develoment and Germination by C.F. Robinow). Academic Press. New York.

Hardwick. W.A. and J.W. Foster. 1952. On the Nature of Sporogensis in some aerobic bacteria. J. Gen. Physiol 35 : 907.

Hills, G.M. 1949. Chemical factors in the germination of sporebearing aerobes. On the effect of nutritional factor. J. Microbiol., 4 : 38.

Kanysi, G. 1948. The endospore of bacteria. Bacteriological Review 12:19.

Klieneberger - Nobel, E. 1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York. 145 p.

Lamanna, C. 1940. J. Bacteriol. 40 : 317.

Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit. 1954. An Introduction to Bactrial Physiology. W.H. Freeman and Co. San Francisco.

Levy, J., J. J. R.Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Prarsall, and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New Yrok. 769 p.

Powel. E.O., 1957. J. App. Bacteriol. 20 : 342.

Robinow, C.F. 1935. J. Bacteriol., 66 : 300.

Robinow, C.F. 1951. J. Gen. Microbiol. 5 : 439.

Williams, O.B. et al. 1952. «Symposium on the biology of Bacterial spores, Bacteriological Review, 16 : 89.

الباب الثالث

معيشة وتأقلم البكتيريا

في البيئات الطبيعية

Ecology of Bacteria

ان دراسة طرق معيشة وتأقلم الكائنات الحية عموما فى بيئاتها الطبيعية ، تعتبر من الدراسات المفيدة التى تجذب اليها كثير من العلماء من شتى الميادين العلمية . فهى هامة لدارسى علم البيئة ecology ، وعلم الاجتماع Sociology وهامة أيضا لعلماء الحفريات paleontologists ، وكذلك لعلماء الآثار archaeologists . فكل هؤلاء العلماء يهمهم أن يعرفوا العلاقة بين الكائنات الحية ، دقيقة كانت أم كبيرة ، والبيئة المحيطة بها كل من وجهة نظر معينة بالرغم من التشابه الكبير فى الطرق البحثية المتبعة . وهذه الدراسات تؤدى إلى معرفة الظروف التى يمكن بها أن تعيش وتنمو مجموعات الكائنات المختلفة ، وإلى معرفة الظروف التى توقف نموها وازدهارها . والتعرف على دور الفرد وتأثيره فى حياة المجموعات البيولوجية وكذلك تأثير المجموع على حياة الفرد . ويمكن الحصول على مثل هذه المعلومات عن طريق الملاحظات الدقيقة والمقارنات السليمة ، التى تسفر عن معرفة تأثير العوامل الفيزيائية — (درجات الحرارة الجوية المختلفة ، والضوء ، والرطوبة) . وتأثير العوامل الكيمائية (توفر الغذاء ، ووجود مواد كيماوية سامة بالبيئة المحيطة بها ، وما إلى ذلك) ، وكذلك تأثير البيئة البيولوجية (تنافس على الطعام ، تطفل ، معيشة تعاونية) على درجة نمو وتأقلم الكائنات الحية المختلفة .

ولا يقل إهتمام علماء البكتيريولوجيا بهذا النوع من الدراسات البيئية عن غيرهم من العلماء إلا أن دراستها تعتبر أكثر تعقيدا وصعوبة نتيجة للسبب

التقليدى الذى يزيد من تعقيد الدراسات البكتيريولوجية ألا وهو صغر حجم الخلايا البكتيرية والذى يجعل من العسير التعرف على أنواعها ، على أساس أشكالها الظاهرية كغيرها من الكائنات ، فمثلا يتطلب التعرف على الأنواع البكتيرية فى وسط ما أخذ عينات إلى المعمل وزرع جزء منها بطرق معينة ثم عـزل الكائنات المختلطة كل بمفرده ، ثم تجرى على كل مزرعة نقية عدة اختبارات مورفولوجية وفسيولوجية ، وسيرولوجية حتى يمكن التأكد من الأجناس أو الأنواع التى تنتمى اليها. لذلك فان دراسات الحصر العام general survey للفلورا البكتيرية Bacterial flora ، ودراسة تأثير العوامل المختلفة على بقاؤها تعتبر أكثر تعقيدا من الملاحظات والمشاهدات التى يكتفى بها أحيانا فى مثل هذه الدراسات على النباتات الراقية مثلا .

وعادة يدرس تأثير العوامل الفيزيائية والكيماوية المختلفة على المزارع النقية من البكتيريات المختلفة وعن طريق هذه الدراسات يمكن معرفة مقدرة البكتيريات المختلفة على التفاعل مع التغيرات البيئية التى تحدث فى الطبيعة .

وعندما تكون مثل هذه الدراسات غير كافية لإظهار كيفية معيشة وتأقلم هذه الكائنات فى الطبيعة يجرى مزيد من الدراسة لمعرفة العلاقات البيولوجية بين البكتيريات المختلفة بعضها ببعض وكذلك علاقتها بالكائنات الحية الأخرى التى تعيش معها فى البيئة الطبيعية — فالكائنات الحية الدقيقة لا تعيش بمفردها فى مزارع نقية فى بيئاتها الطبيعية فهى تعيش دائماً فى مجاميع مختلطة mixed populations وافراد هذه المجاميع المختلطة من تنافس بعضها البعض على مصدر الغذاء وأحيانا أخرى نجد بعض افراد المجموعة تعتمد على غيرها للحصول على ما يلزمها من الغذاء . كما أن هناك عددا كبيرا من المواد الكيماوية المضادة لنمو الكائنات الدقيقة تفرز نتيجة لنمو بعض البكتيريا والفطريات ، وقد اكتشفت تأثيرها عند محاولة البحث عن المضادات الحيوية المفيدة للانسان فى عـلاج كثير من الأمراض الميكروبية . مثل هذه المواد الكيماوية لابد وأنها تلعب دورا هاما فى بقاء وتأقلم المجاميع المختلطة . وعلاوة على ذلك فإن هناك بعض

البكتيريات تكون ذات قدرة أكبر من غيرها من الكائنات الدقيقة على مقاومة الظروف البيئية الشاذة وهذه عادة ما يسود تعداده المجاميع المختلطة .

والبكتيريا المتطفلة (parasites) سواء على النبات أو الحيوان وتلك التى تعيش مع غيرها من الكائنات معيشة تكافلية (symbiosis) تكون اقدر من غيرها على التغلب على نظم العائل الدفاعية deffensive mechanisms وكلما كانت هذه الطرق مبنية على أسس بيوكيميائية كلما زاد تفهمنا لطرق حياة مثل هذه المجاميع المختلطة .

من ذلك نرى إن نمو المجموع يتوقف على نمو الفرد ومقدرته على التكاثر وقد اصطلح بعض علماء البكتريولوجيا على استعمال كلمة نمو growth للاشارة إلى الزيادة فى الكتلة الخلوية cell mass سواء كان ذلك للخلية الواحدة أو لمجاميع من الخلايا كتلك المكونة للمستعمرة أو المزرعة البكتيرية واستعمال كلمة تكاثر reproduction يشار بها إلى الزيادة فى عدد الخلايا cell numbers نتيجة للانقسام ، إلا أننا سوف نستعمل كلمة نمو growth هنا للاشارة إلى كل من الزيادة فى الكتلة الخلوية والزيادة فى تعداد الخلاياأيضا وقدرة الخلايا البكتيرية على الانقسام تعتبر الطريق المعتاد للحكم على حيويتها . وحقيقة أن بعض الخلايا البكتيرية غير الحية يكون لها بعض النشاط الأيضى ولكنها لا تقدر على التكاثر لفساد نظمها الخاصة بالانقسام ، ويجب أن نقف هنا قليلا لنناقش نقطة هامة تتعلق بالفيروسات القابلة للتبلور . فقد وجد أنه ليس لجزيئات هذه الفيروسات أى نشاط أيضى ولكنها مع ذلك قادرة على التكاثر . وعلى أساس هذه النقطة يمكن اعتبار الفيروسات كائنات حية — بصرف النظر عن كونها متبلورة أو غير متباورة . ومقدرة الخلية على النمو والتكاثر تتوقف كثيرا على كفاءتها فى تجهيز مواد بروتوبلازمية جديدة من مصدر الغذاء المحيط بها . وتحويل المواد الخام إلى نواتيج تفاعل بمساعدة الجهاز الانزيمى الخلوى وهذا بدوره يكون محكوما بالنظام الوراثى للخلية .

الفصل الأول

نمو وتكاثر البكتيريا

Growth and Reproduction of bacteria

عندما تنمى البكتيريا على بيئة صناعية مناسبة وتهيء لها الظروف الملائمة ينتج بالبيئة – خلال فترة وجيزة – عدد كبير من الخلايا نتيجة لانقسام الخلايا وتكاثرها ويصل عدد خلايا بعض الأنواع البكتيرية إلى ذروته فى فترة أربعة وعشرين ساعة على حين أن بعض الأنواع الأخرى تتطلب وقتا أطول من ذلك ليصل تعداد خلاياها إلى حده الأقصى . وقد سبق أن ذكرنا أن استعمال كلمة نمو (growth) فى علم البكتيريا يقصد بها المحصول النهائى من الخلايا وعادة تبدأ المزرعة البكتيرية بكمية من اللقاح محتوية على آلاف من الخلايا ، فالمقصود بالنمو إذن هو الزيادة فى تعداد الخلايا عن القدر الذى بدأت به المزرعة والذى كان موجوداً باللقاح الأصلى . لذلك فإن تقدير النمو يتطلب قياسات كمية للمحصول الخلوى .

عملية التكاثر الخلوى : The process of cell reporduction :

ان نمو وانقسام الخلايا البكتيرية يمثل عملية دورية cyclical فكل خلية جديدة تتكون ، تصبح بدورها ذات قدرة على التكاثر ، بمعنى أن الخلايا – الجديدة الناتجة عن الانقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التى كانت تميز آباءها القادرة على التكاثر .

وتتلخص عملية التكاثر عند بدء الخلية فى النمو بزيادة محتوياتها البروتوبلازمية نتيجة لحدوث عدة تفاعلات غير مرتبطة ببعضها . وتتوزع المواد الغذائية داخل الخلية عقب مرورها خلال الغشاء السيتوبلازمى .

وتخليق البروتينات ، والكربوايدرات ، والدهون ، والأحماض النووية الجديدة بالخلية يتطلب تجهيز عدد كبير من المواد الكيماوية التى تدخل فى تركيب هذه المواد المختلفة ثم ترتب هذه المواد بطرق خاصة تختلف باختلاف نوع أو طراز البكتيريا النامية. فمثلا يمكن للطرز المختلفة من البكتيريا Pneumococci أن تنمو جميعا على بيئة غذائية واحدة إلا أن كل طراز يكون موادا غلافية تختلف عن الطراز الآخر بالرغم من تشابه الطرز جميعا فى نوع البروتين الخلوى المتكون ، فالخلية البكتيرية إذن تنمو طبقاً لنظام مرسوم ومحدد قبل انقسامها وأن هذا النظام يتكرر بتكرار انقسام أجيالها المتعاقبة ما لم يحدث تغيير فى جهازها الوراثى . فالنظام الوراثى للخلايا هو الذى يتحكم إذن فى كيفية تخليقها للمواد البنائية وفى درجة انقسامها .

إن معظم الدراسات السيتولوجية الخاصة بالانقسام الخلوى تمت على البكتيريا العصوية الموجبة لصبغة جرام والكبيرة الحجم نوعا والتابعة لجنس *Bacillus* . واستعمال الأصباغ العادية بالأستعانة بالمجهر الضوئى لا يفى بهذا الغرض من الدراسات ، إلا أنه قد اتبع لذلك حديثا طرق صبغ خاصة ، كما كان لاستعمال المجهر الالكترونى أهمية كبيرة فى دراسة انقسام البكتيريات فى التحضيرات غير المصبوغة . وقد اظهرت هذه الدراسات أن نمو الخلايا قبل الانقسام يؤدى إلى زيادة فى طولها (يلاحظ ذلك بوضوح فى البكتيريسات العصوية عنها فى البكتيريات الكروية) ، ومع الزيادة فى كمية السيتوبلازم يتكون بالخلية القادمة على الانقسام كمية من المحتويات النووية DNA تكفى لخليتين . وقد سبق أن ذكرنا أنه قامت عدة محاولات لمعرفة مدى التشابه بين انقسام المحتويات الكروماتينية بالخلية البكتيرية والانقسام العادى mitosis الذى يتم بالخلايا الراقية ، إلا أنه لم يمكن الجزم أن المحتويات البكتيرية تنقسم بطريقة مشابهة لأى طور من أطوار هذا النوع من الانقسام ، وحيث أن الطرق المتبعة فى صبغ المحتويات الكروماتينية قد تغير كثيرا من شكل ووضع هذه المحتويات بالخلية فانه يصعب حينئذ الحكم بأن ما نشاهده بالخلية المصبوغة يمثل

الحالة الطبيعية للأجسام الكروماتينية المنقسمة ، وفى الحقيقة فان انقسام المحتويات الكروماتينية للخلايا البكتيرية لم يشاهد أو يلاحظ إلى الآن ولكن يوجد من الأدلة ما يكفى للاعتقاد بأنها تنفصل عن بعضها اى تحدث تكرار للكروموسوم البكتيرى chromosomel replication الدائرى .

وعقب زيادة الخلايا المقبلة على الانفلاق فى الحجم تبدأ الخلايا فى الانقسام إلى خليتين ويحدث ذلك بتكون غشاء سيتوبلازمى عرضى transverse membrane (شكل ٥٨) يكون متصلا بالغشاء السيتوبلازمى ومصاحبا للميزوسومات بالخلية الأم .

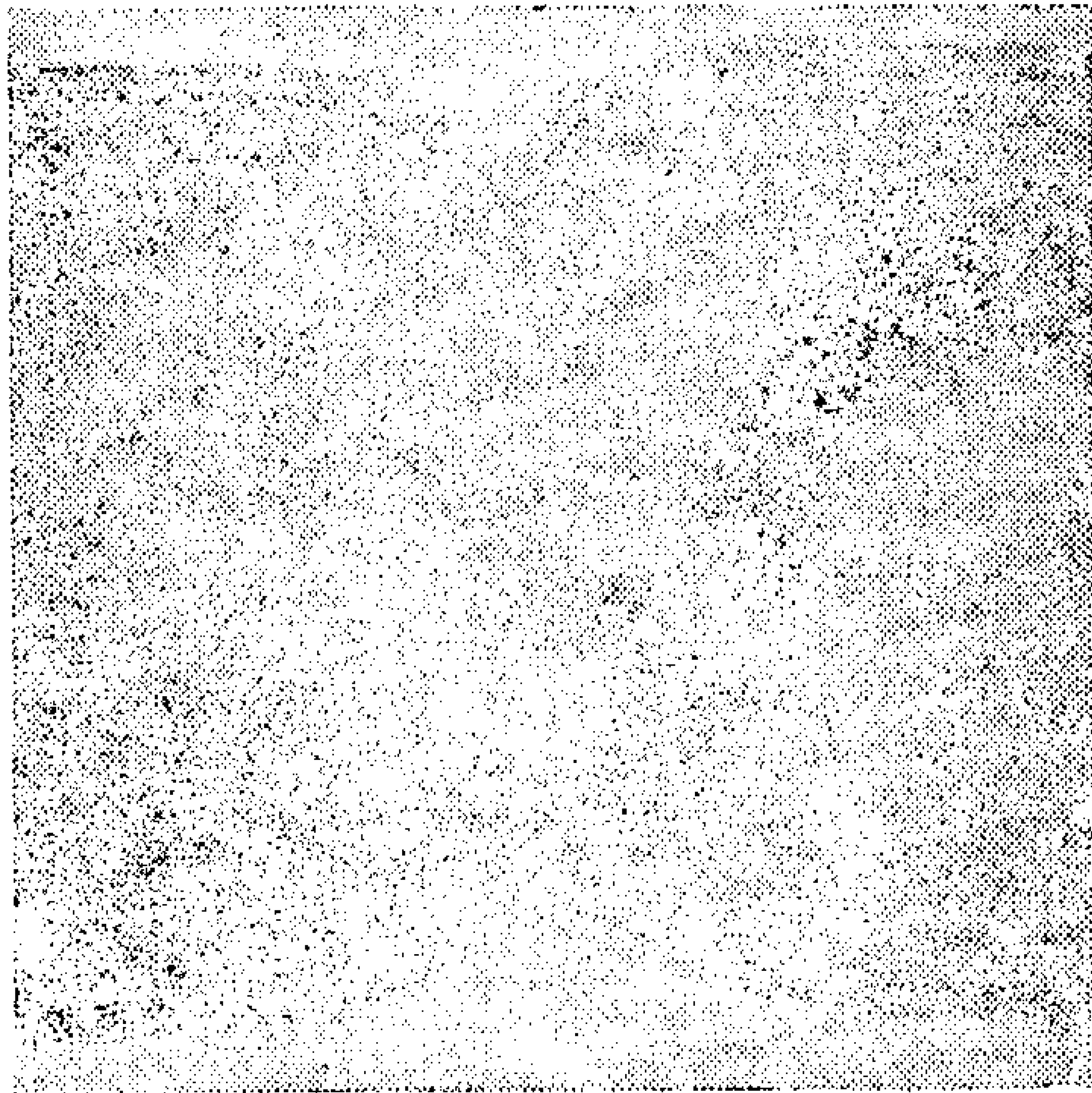
ويلاحظ عند الفحص المجهرى لتحضير مصبوغ من الخلايا المنقسمة أن الغشاء العرضى الذى يفصل بين الخليتين الجديدتين ينشق إلى غشائين منفصلين نتيجة لتكون جدار خلوى جديد بينهما . وقد أمكن إظهار مثل هذا الجدار الخلوى المتكون بطرق الصبغ المميزة للجدار الخلوية ، ويعقب ذلك انشقاق للجدار الخلوى العرضى المتكون بدوره إلى طبقتين . والخليتان الجديدتان إما أن ينفصلا عن بعضهما مباشرة ، أو يظلا ملتصقتين ليكونا سلسلة من الخلايا أو تجمعات مختلفة كما سبق بيان ذلك .

وهناك تفسير آخر لحدوث الانقسام الخلوى وهو ينص على أن الخليــة البكتيرية تنقسم نتيجــة لنمو حاجز عرضى يتكون من مادة الجدار الخلوى ينشأ من منطقة جدار الخلية الأم ممتدا بداخل الخلية حتى يفصلهـا إلى خليتـين وأن الجـدار المتكون لا يلبث أن يزدوج ليسهل انفصال الخلايا الجديدة المتكونة .

وقد بينت الدراسات الحديثة أن الغشاء السيتوبلازمى العرضى السابق

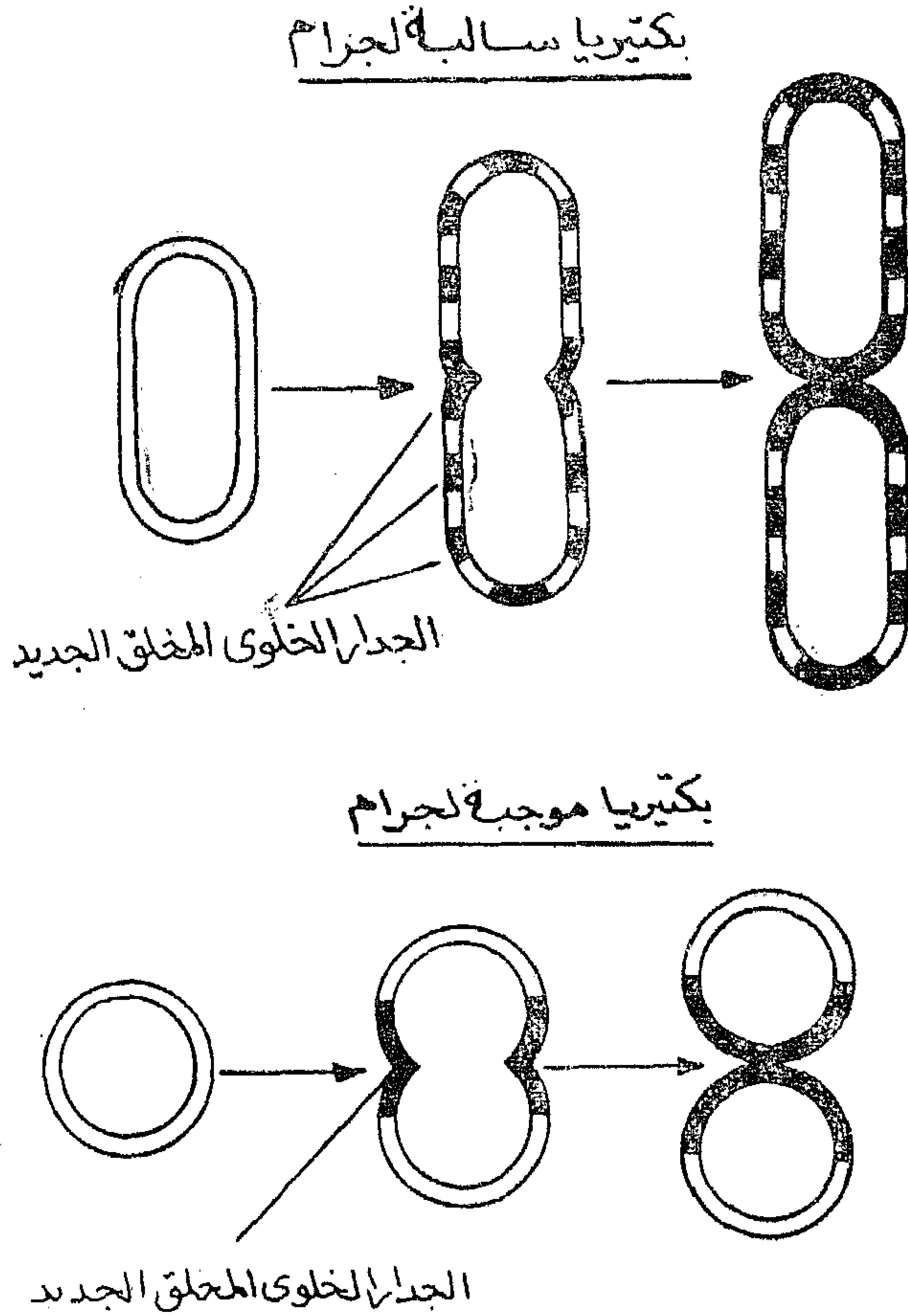
الإشارة إليه هو أول ما يتكون أثناء إنقسام الخلية وليس الجدار الخلوى ليفصل بين الخليتين الجديدتين . وتختلف طرق وأمكنة ترسيب المواد المكونة للجدر الخلوية فى الخلايا المنقسمة بإختلاف النوع البكتيرى ففى البكتيريا الموجبة لجرام مثل أنواع الجنس *Bacillus* والجنس *Streptococcus* فإن مواد الجدار الخلوى الجديد تخلق فقط عند موقع الحاجز العرضى أى بالقرب من وسط الجدار الخلوى القديم (شكل ٥٩) . ومن مواقع مختلفة كما فى حالة بعض البكتيريات السالبة لجرام (شكل ٥٩) .

وقد تمت بعض الدراسات على بعض البكتيريات السالبة لجرام فبينت أن الخلايا تنقسم بطريقة أخرى غير الإنفلاق العرضى إذ تستطيل فيها الخلية البكتيرية من أحد أطرافها ثم يتكون جدارا عرضيا جديدا قرب هذه القمة وان هذا الجدار الجديد يتكون نتيجة للنشاط الافرازى للغشاء السيتوبلازمى . ثم يبطن الجدار الخلوى الجديد من الجانبين بطبقة من الغشاء السيتوبلازمى مكونا



شكل ٥٨ : صورة إلكترومكروسكوبية تبين تكوين الحاجز العرضى Transverse septum فى خلية *Bacillus polymyxa* فى مرحلة الإنقسام . لاحظ ايضا الإمتداد الداخلى لنمو الجدار الخلوى الفاصل بين الخليتين (× ٧٨٠٠٠) (عن Levey et al. 1973).

لما يشبه القمة النامية . ويبدو أن مثل هذه القمة النامية تنشأ عند مكان الاستطالة التى تميز وتحدد مكان الانقسام . وهذه الطريقة تشابه كثيرا عملية التبرعم التى تميز تكاثر خلايا الخميرة yeast . وهناك بعض البكتيريات وبخاصة تلك التابعة لمجموعة البكتيريا المتبرعمة تتميز بالتكاثر بطريقة التبرعم الحقيقى true budding



شكل ٥٩ : رسم تخطيطى يمثل إضافة الجدار الخلوى فى الخلايا النامية السالبة لجرام والموجبة لجرام (عن Nester et al 1978)

والتي تتميز بخروج نتوءات من الخلايا الأم يزداد حجمها ثم تنفصل عنها مكونة خلايا جديدة .

وهناك طرق أخرى تنقسم بها البكتيريا وتميز بعض المجاميع البكتيرية ، مثل أفراد رتبة الأكتينوميسيتات والتي تتكاثر بتجزؤ خيوطها قميا إلى وحدات صغيرة جداً والتي بنموها تعطى نموا خيطيا طبيعيا من جديد .

ولا يزال من غير المعروف على وجه التحديد لماذا تقدم الخلية البكتيرية على الانقسام عندما تصل إلى مرحلة معينة من النمو . هل العامل المسبب لحدوث الانقسام هو نسبة السطح إلى الحجم أم نسبة المحتويات النووية إلى كمية البروتوبلازم الخلوى أم احتواء الخلية على كمية معينة من بعض المواد الايضية اللازمة لانتاج الطاقة الكافية لحدوث الانقسام ، أم أن الخلية تقدم على الانقسام نتيجة لزيادة نشاط الانزيمات المسئولة عن تخليق الأغشية والجدر الجديدة ؟ إلى الآن لم يثبت أن واحدا من هذه العوامل هو المسئول الفعلى عن حدوث الانقسام أو الانفلاق الخلوى .

وقد كان يعتقد إلى عهد قريب أن الانفلاق الثنائى هو الطريق الوحيد لتكاثر البكتيريا حيث لم يشاهد حينئذ قدرة البكتيريات على التكاثر الجنسى . وقد أمكن حديثا إثبات حدوث التكاثر الجنسى فى البكتيريات وذلك عن طريق مشاهدة انتقال صفات الآباء إلى الأجيال المتعاقبة . ويشترط لإظهار هذا الانتقال فى الصفات الوراثية استعمال آباء مختلفة فى واحد أو أكثر من الصفات الثابتة . واستعمل لذلك طفرات من البكتيريا *Escherichia coli* تختلف عن بعضها فى كفاءتها البيوكيمائية biochemical mutants • وعند زراعة اثنين من هذه الطفرات معاً فى مزرعة واحدة أمكن بعد فترة ، عزل بعض الخلايا الناتجة عن التكاثر الجنسى والتى تجمع بين صفات الأبوين المستعملين وسوف نعود لمناقشة التكاثر الجنسى وظاهرة التعابر وتبادل الصفات الوراثية عند مناقشة الوراثة بالبكتيريا .

وقد نادى كثير من الباحثين بأن البكتيريات يمكنها أن تقدم على نوع من الاتحاد fusion والذى يعرف الآن بالتكاثر الجنسى . وحتى إذا أمكننا إثبات أن الخلايا البكتيرية يمكنها الالتحام أو الاتحاد فان ذلك يتم بين خلايا متشابهة وليس بين خلايا غير متشابهة ، بمعنى أن التكاثر الجنسى يكون من النوع المتشابه الجاميطات isogamic كالذى يتم مثلا فى الفطريات الزيجية وأنه يمكن اعتبار أحد الخلايا الملتحمة موجبة والأخرى سالبة . وأمكن إثبات حدوث التزاوج أو الالتحام سيتولوجيا ووراثيا إلا أن الطرق الأخيرة تعتبر أكثر اقناعا من الأولى . وفيما يلى أمثلة تشير إلى حدوث الالتحام :
فقبل إقدام البكتيريا التابعة لرتبة *Myxobacterales* على تكوين التركيبات المعروفة باسم الحويصلات الصغيرة microcysts فان المحتويات النووية تلتحم ببعضها ثم تنقسم من جديد وبعد ذلك تتكون جدر فاصلة . كما عال Stoughton (١٩٣٢) وجود التجمعات النجمية المكونة من ٤ — ٦ خلايا والتى تتميز بها البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* نتيجة للالتحام التزاوجى sexual fusion. وعند صبغ هذه التجمعات بتفاعل فيولوجين لوحظت المحتويات النووية متجمعة فى الخلايا فى مركز الشكل التجمعى (شكل ٦٠) . وقد لوحظ أن الخلايا تستطيل بدرجة واضحة وهى مكونة للشكل النجمى وأنها تكون مرتبطة ببعضها بقوة حيث أن عمليات الغسيل والصبغ لا تفصلها . كما يصعب فصلها أيضا عن بعضها ميكانيكيا باستعمال أجهزة



شكل ٦٠ : صورة الكترو ميكروسكوبية لتجمع نجمى الشكل لخلايا البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* لاحظ ان الخلايا تبدو ذات جدر منفصلة وان المحتويات النووية للخلايا متجمعة فى مركز الشكل النجمى .

micromanupilators وهذا يبين أن التجمع فى الشكل النجمى هو نتيجة للتزاوج وليس نتيجة لتشابك الأسواط . وفيما لاحظ Braun و Elord (١٩٤٦) تجمع خلايا البكتيريا *Xanthomonas malvacearum* فى أزواج واقترحا أن هذا التجمع ما هو إلا نوع من الالتحام التزاوجى .

تقدير النمو البكتيرى Quantitative Measurments of Bacterial growth

إن طرق تقدير النمو البكتيرى كما تعتمد على طبيعة عمليات النمو نفسها بمعنى أنها تعتمد على الزيادة فى كمية البروتوبلازم البكتيرى أو فى عدد الخلايا المتكونة نتيجة للانقسام . وفى بعض الأحيان قد يمكن قياس نشاط واحد أو أكثر من النظم الانزيمية الحاوية بصفتها تمثل أحد المكونات البروتوبلازمية .

ويقدر النمو كميا بطرق عديدة مبنية على الأسس الآتية :

أولا — تقدير عدد الخلايا cell count مباشرة (باستعمال المجهر) أو بطريق غير مباشر (باجراء عد المستعمرات) .

ثانيا — تقدير الكتلة الخلوية مباشرة عن طريق تقدير الوزن الرطب أو الجاف أو عن طريق تقدير كمية النيتروجين الخلوى أو بطريق غير مباشر بتقدير درجة تعكير البيئة .

ثالثا — تقدير النشاط الحاوى وهى طريقة غير مباشرة لتقدير النمو وذلك بمقارنة النشاط الانزيمى المتحصل عليه بكمية النمو المراد قياسها .

وفيما يلى الطرق المتبعة لتقدير النمو البكتيرى :—

أولا : تقدير عدد الخلايا

١ — تقدير عدد الخلايا مباشرة بالمجهر فى تحضيرات مصبوغة من المزرعة البكتيرية المراد قياس كمية نموها . وفيما يلى الخطوات المتبعة لتقدير بكتيريا اللبن طبقاً لطريقة Breed :—

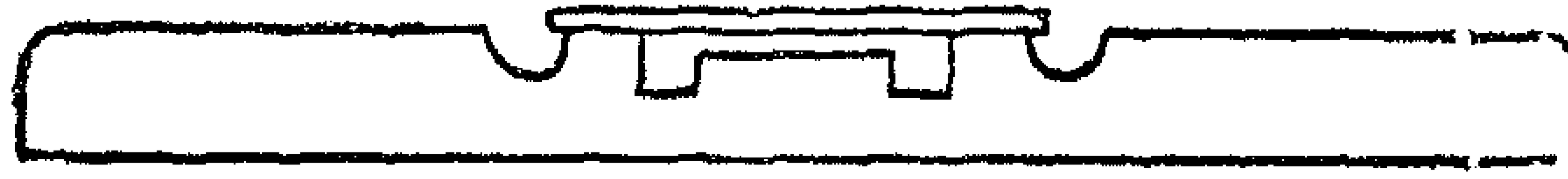
ينشر حجم معلوم من المزرعة أو المعلق البكتيرى (٠١, مل) بإنتظام على مكان متوسط من الشريحة . وبعد تثبيت الغشاء الناتج وصبغه يفحص الغشاء

ميكروسكوبيا ثم يجرى عد البكتيريا الفردية . ولما كان من الصعب عد جميع خلايا الغشاء بالدقة اللازمة ، فيكتفى بعد الخلايا التى تشاهد فى عدة حقول مجهرية ثم يحسب عدد الخلايا فى المليلتر الواحد من العينة الأصلية من متوسط عدد الخلايا فى الحقل المجهرى .

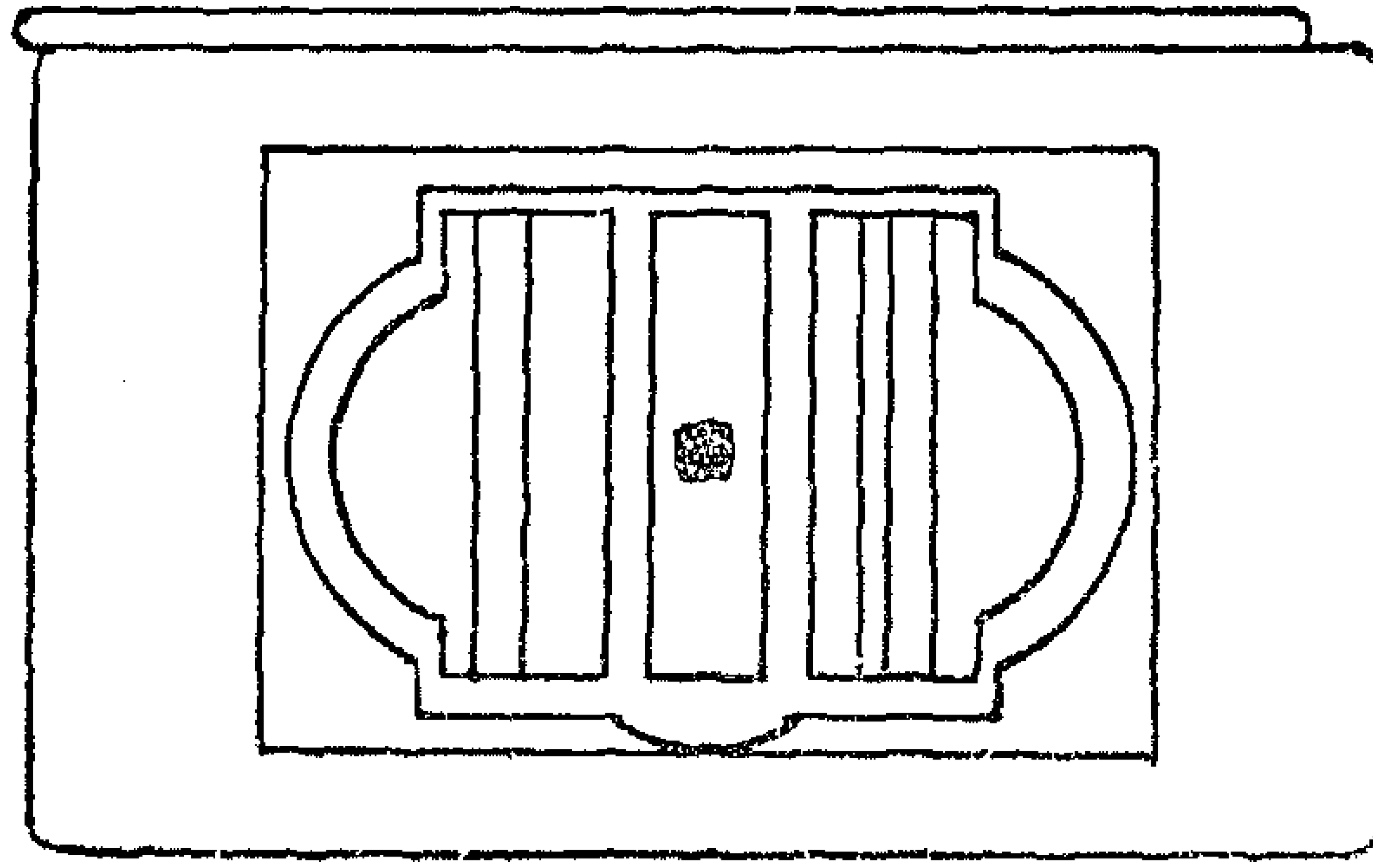
هذا ويمكن استعمال الشرائح الخاصة بتقدير تعداد كرات الدم مثل شريحة بيتروف هاوسر Petroff - Hausser (شكل ٦١) لاجراء العد المباشر للخلايا البكتيرية . حيث يوضع المعلق البكتيرى فى غرفة صغيرة مجوفة ومقسم جزء منها بابعاد معلومة ثم تغطى بغطاء شريحة زجاجى يفضل ان تفحص الخلايا باستعمال طريقة المجهر ذى الحقل المظلم أو مجهر تباين الأطوار ، فالخلايا تكون اذن غير مصبوغة لذلك يصعب رؤيتها بالمجهر الضوئى العادى . وحيث أن غرفة العد مقسمة إلى مساحات معلومة وان سمك طبقة المعلق البكتيرى بها تكون محدودة فيمكن إذن التعرف على حجم المعلق فوق كل مساحة أو مربع من المربعات المشاهدة بالحقل المجهرى . اذن فالمفروض تقديره هو متوسط عدد الخلايا فى المربع الواحد ثم بضرب هذا المتوسط فى معامل خاص يحول هذا الرقم إلى عدد الخلايا فى المليلتر الواحد من المزرعة البكتيرية أو المعلق البكتيرى المستعمل .

وتتميز طريقة العد المباشر ببساطة أجهزتها وبالحصول على نتائج سريعة وامكان ملاحظة الشكل المورفولوجى للخلايا أثناء عدها . ومن عيوب هذه الطريقة عدم امكان التمييز بين الخلايا الحية والأخرى الميتة ، كما أنها ليست دقيقة فى حالة المعلقات البكتيرية الكثيفة أو تلك المخففة بدرجة كبيرة علاوة على أن إجراء العد الفردى للخلايا يعتبر من الأمور المجهدة للبصر .

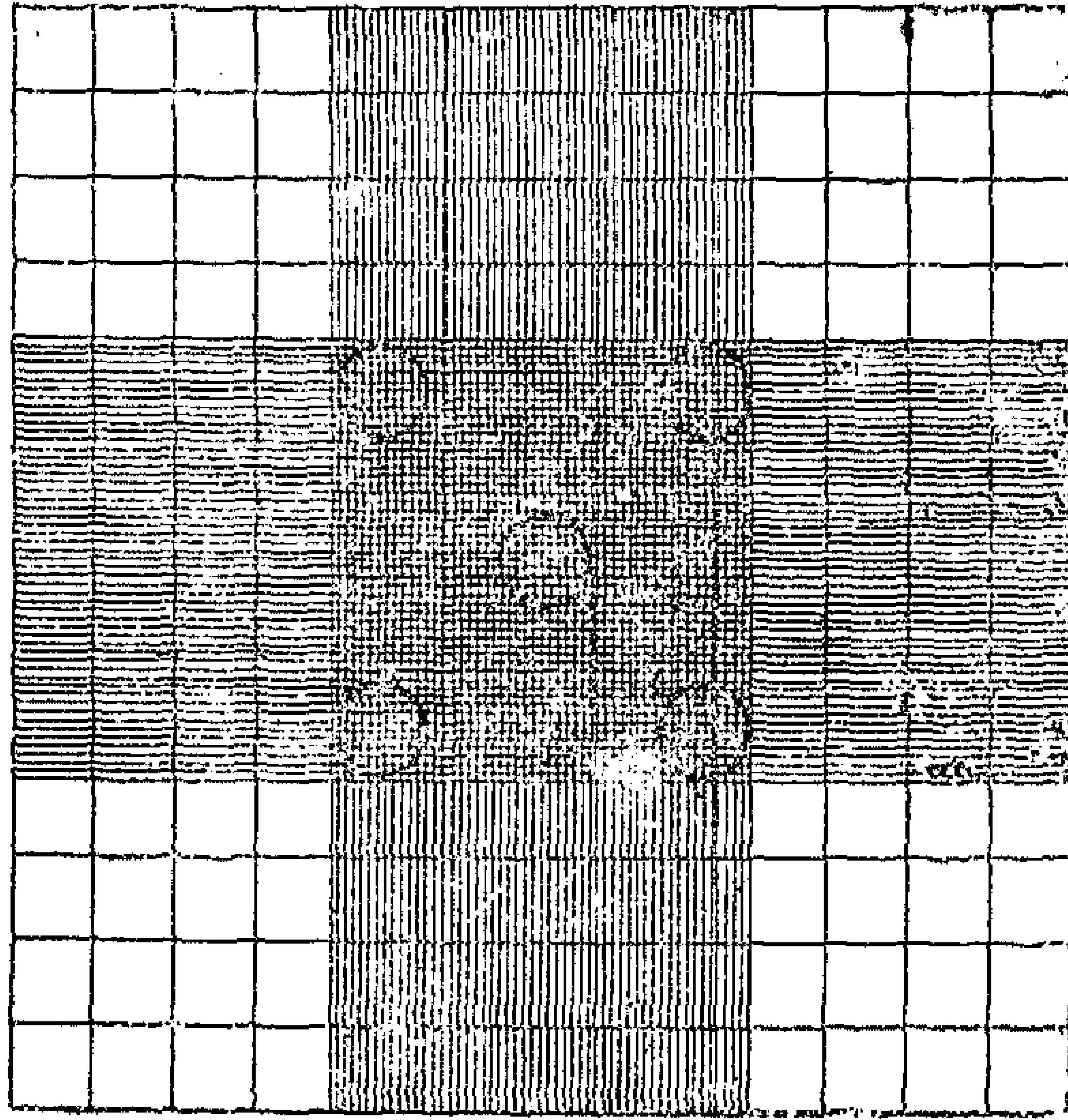
٢ — تقدير عدد الخلايا ذات القدرة على التكاثر تحت الظروف المناسبة لنموها : ويجرى ذلك بأستعمال طريقة عد المستعمرات colony count أو طريقة العد بالأطباق plate count ، وفى هذه الطريقة توضع كمية معلومة من اللقاح فى طبق بترى معقم ثم يصب عليه كمية من بيئة الآجار المغذى المسالة



أ



ب



حـ

شكل ٦١ : شريحة بيتروف – هاوسر Petroff-Hausser لتقدير عدد الخلايا البكتيرية
أ – قطاع طولى مستعرض للشريحة فى موضع يمر بمركز الشريحة . يلاحظ كيفية وضع غطاء الشريحة
ب – منظر عام للشريحة . المربع الغامق فى مركز الشريحة هو المنطقة المقسمة والمبينة فى حـ . حيث يقدر عدد خلايا البكتيريا فى عدد من المربعات المتماثلة كتلك المحددة بدوائر فى شكل حـ .

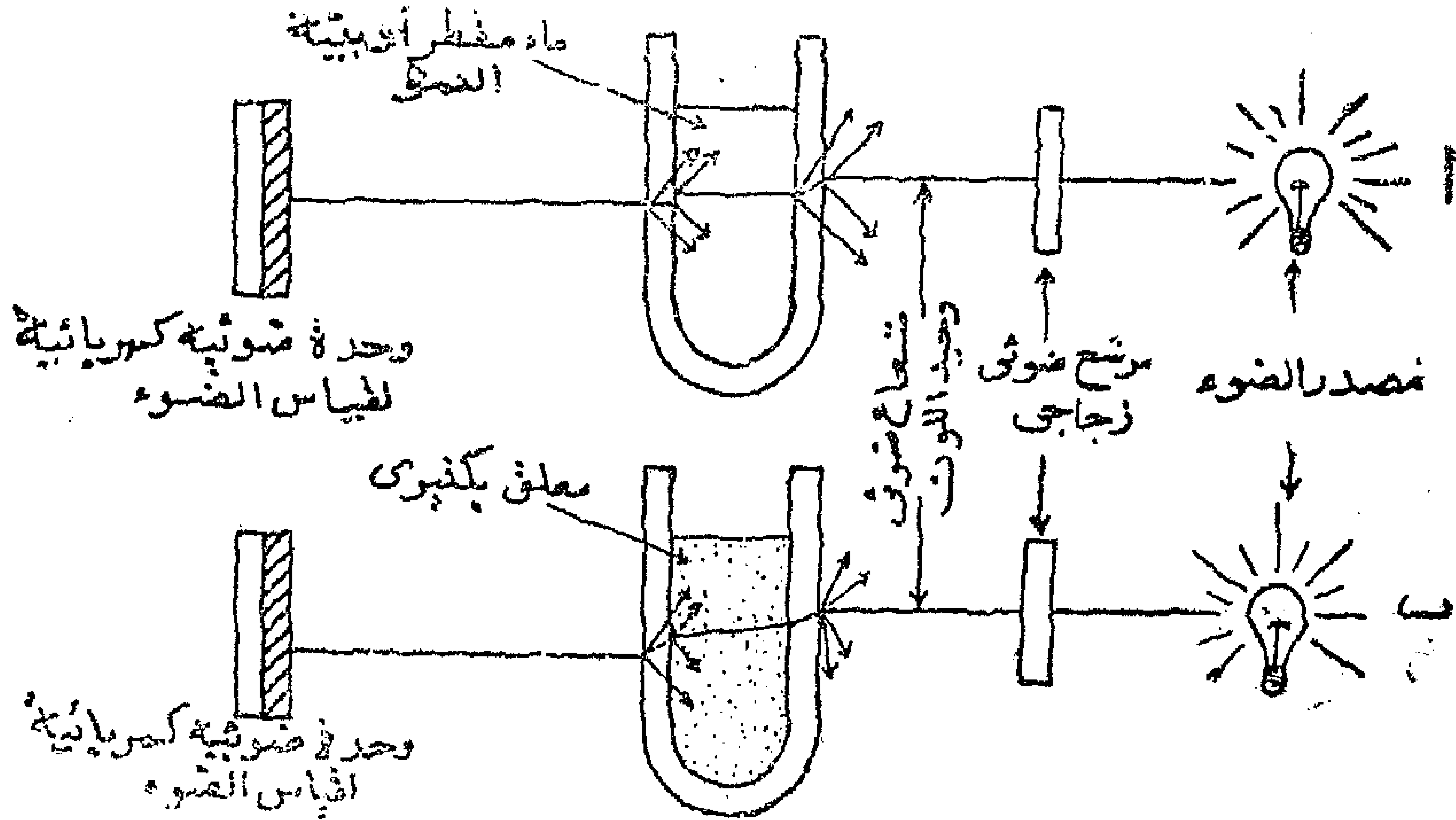
(٤٥° م) ويخلط الاثنان جيدا بتحريك الطبق حركة رحوية ويترك الآجار ليتصلب . وسوف تنحصر بعض الخلايا الفردية فى الآجار المتصلب وعلى سطحه وحيث أنه من المعروف أن كل خلية عند تكاثرها تعطى كتلة من الخلايا المتجمعة تعرف باسم المستعمرة colony إذن فتقدير عدد المستعمرات فى الطبق يكون متلازما مع عدد الخلايا الحية فى كمية اللقاح المستعملة. وطريقة العد فى الأطباق تتطلب اجراء تخفيف متسلسل للعينة بدرجة تسمح بظهور عدد من المستعمرات فى الطبق الواحد يتراوح بين ٣٠ - ٣٠٠ مستعمرة حيث أنه فى نطاق هذا العدد تتوفر الدقة اللازمة لاجراء العد ويقل تداخل المستعمرات الناتجة بعضها ببعض .

وحيث أن هذه الطريقة تعتمد كما سبق أن بينا ، على أن الخلية الواحدة ينتج عنها مستعمرة بكتيرية واحدة فانه يجب أن يفترض أيضا أن كل الخلايا المكونة للمجموع تكون نامية فى ظروف واحدة . وذلك لأنه إذا احتوى المجموع على أكثر من نوع بكتيرى وان هذه الأنواع تختلف فى احتياجاتها من الظروف البيئية ، فان هذه الطريقة قد لا تمثل الحقيقة ، وعلاوة على ذلك فان بعض الخلايا البكتيرية تتحد مع بعضها فى مجاميع أو تجمعات يصعب — فصلها إلى خلايا فردية فيقل عدد المستعمرات فى هذه الحالة عن عدد الخلايا الحية الفردية . وبالرغم من الانتقادات التى توجه إلى هذه الطريقة إلا أنها لازالت تتبع بكثرة وبصفة روتينية فى تقدير عدد البكتيريا فى اللبن ، والمياه ، والأغذية وغيرها من المواد . كما يمكن استعمالها لتقدير النمو البكتيرى فى العينات ذات الكثافات البكتيرية المختلفة .

ثانيا : تقدير الكتلة الخلوية :

١ — تقدير كثافة المعلق البكتيرى بالقياسات البصرية optical measurements باستعمال الطرق التلوينية colorimetric أو الاسبكتروسكوبية spectrophotometric أو طرق تقدير درجة التعكير turbidimetric : إذا مرر شعاع ضوئى خلال أنبوبة محتوية على خلايا بكتيرية عالقة فى محلول معين فان هذا الشعاع

سوف يتعرض أثناء سيره خلال هذه الأنبوبة إلى ما يأتى (شكل ٦٢) :



شكل ٦٢ : رسم تخطيطى يبين كيفية عمل جهاز قياس الألوان الضوئى فى قياس النمو البكتيرى Photoclectric colorimeter
(أ) خطوات ضبط الجهاز . (ب) تقدير درجة تعكير المعلق البكتيرى .

يصطدم الشعاع بالسطح الخارجى من الأنبوبة الزجاجية وينعكس بعض منه ويمر الجزء الباقى منكسرا خلال سمك الجدار الزجاجى للانبوبة حيث يقابل السطح الداخلى منها فينعكس بعضه ويمر ما يتبقى منه منكسراً أيضا داخل معلق الخلايا البكتيرية . فتمتص جزيئات السائل والخلايا البكتيرية بعضا من هذه الأشعة وتقلل كثافتها . وأثناء خروج الشعاع من الجانب الآخر من الأنبوبة يواجه نفس الانعكاسات والانكسارات والبعثرة الضوئية التى مر بها أثناء دخوله . فاذا استعملت أولا انبوبة تحتوى على السائل العالقة به الخلايا البكتيرية — سواء كان ماء مقطرا أو بيئة — ومرر الشعاع ثم يضبط الجهاز المستعمل لقراءة كثافة الضوء بحيث تكون النسبة المئوية للضوء النافذ ٪ trans-mittance مساوية ١٠٠٪ فبذلك يمكن الغاء تأثير الأنبوبة الزجاجية والبيئة العالقة بها الخلايا البكتيرية (شكل ٦٢ أ) . وإذا وضع المعلق البكتيرى بعد ذلك فى

نفس الأنبوبة وقرئت نسبة نفاذية الضوء بالجهاز (شكل ٦٢ ب) فستكون أقل من ١٠٠٪ ويلاحظ أنه كلما زاد تعكير البيئة كلما قلت القراءة ويراعى اختيار الضوء الوحيد اللون المناسب لكل تحضير أو معلق بكتيرى ويجرى ذلك باختبار عدة مرشحات ضوئية توفر موجات ضوئية مختلفة الاطوال) حيث يستعمل منها ما يمكن للمعلق البكتيرى أن يمتص أكبر كمية ممكنة من الضوء النافذ خلاله .

من ذلك نرى أنه يمكن قياس الضوء النافذ خلال مزرعة بكتيرية سائلة أو معلق بكتيرى بالدقة الكافية بإستعمال وحدة ضوئية حساسة فى جهاز Spectrophotometer أو فى جهاز colorimeter أو جهاز turbidimeter وتقدير الكثافة الضوئية optical density أو على أساس النسبة المئوية لنفاذية الضوء ، وهناك علاقة بين التقديرين فالكثافة الضوئية = ٢ — لوغاريتم النسبة المئوية لنفاذية الضوء . وعند تقدير الكثافةالضوئية فإنها تتناسب طرديا مع كمية النمو . وإذا ما قدرت النسبة المئوية لنفاذية الضوء فإنها تكون متلازمة عكسيا مع عدد الخلايا ، وتعرف هذه الطريقة بقياس التعكير وهى من الطرق المتبعة بكثرة فى دراسة البكتريولوجيا لسرعتهاودقتها

ولكن لها بعض العيوب منها أن المزرعة التى تحتوى على عدد 10^6خلية/مل تعتبر رائقة فى حين أن مزرعة أخرى تحتوى 10^7خلية/مل تعطى عكارة يمكن بالكاد قياسها . وكذلك لا يمكن إتباع هذه الطريقة على المواد الملونة بعمق كبير أو التى تحتوى على مواد عالقة أخرى غير الخلايا البكتيرية .

٢ — تقدير النمو البكتيرى بقياس محتويات الخلايا من النيتروجين : معروف أن غالبية المحتويات الخلوية البكتيرية عبارة عن بروتينات وحيث أن الآزوت هو أهم مكونات البروتين فان تقدير كمية النيتروجين فى الخلايا البكتيرية يكون متلازما مع عددها وحجمها . وتقدر نسبة النيتروجين بالبروتين البكتيرى بحوالى ١٤٪ من الوزن الجاف للبروتوبلازم وبالرغم من أن هذه

النسبة تتغير تبعا للظروف البيئية وتبعا للنوع البكتيرى المختبر إلا أنه يمكن التغاضى عن هذه الاختلافات . ولتقدير النمو البكتيرى عن هذا الطريق يجب جمع الخلايا أولا بالقوة المركزية الطاردة وغسلها عدة مرات لتخليصها من البيئة الغذائية ثم يجرى عليها تحليل كيماوى يمكن عن طريقه تقدير كمية النيتروجين كميا . وتقدير النيتروجين البكتيرى يعتبر من الأمور الصعبة ولا يمكن اجراؤه إلا فى العينات الخالية من أى مصدر نيتروجينى غير الخلايا البكتيرية. وعلاوة على ذلك تستعمل هذه الطريقة فقط للمعلقات الكثيفة والمحتوية على خلايا بكتيرية مغسولة .

٣ — تقدير الوزن الرطب أو الجاف للنمو البكتيرى : لتقدير الوزن الرطب تفصل خلايا المزرعة السائلة بعد ترسيبها جيداً بالقوة المركزية الطاردة ثم تغسل الخلايا جيداً بالماء المقطر ويكرر المعاملة بالقوة المركزية الطاردة ثم تعلق فى حجم من الماء المقطر مساويا للحجم الأصلى للمزرعة . ثم يقدر وزن حجم معلوم (١ مل) من المعلق الناتج .

ولتقدير الوزن الجاف للخلايا ، يجفف حجم معلوم من المعلق السابق (١ مل) على درجة ١١٥ °م لمدة ١٢ ساعة . ثم يوزن بعد تبريده ويقدر الوزن الجاف للخلايا .

وأحيانا يحسب الوزن الجاف مباشرة على أساس أنه يمثل ١٠٪ من الوزن الرطب للخلايا إلا أن هذه النسبة تختلف بإختلاف الأنواع البكتيرية .

٤ — يمكن تقدير النمو البكتيرى بتقدير حجم الخلايا دون وزنها ويجرى ذلك بعد معاملة المزرعة البكتيرية بالقوة المركزية الطاردة عالية السرعة فى أنابيب طرد مركزى مدرجة من أسفل إلى أعلى ، ويقدر حجم الراسب بالأنبوبة

ثالثا : تقدير النشاط الخلوى :

قد يقدر النمو البكتيرى بطريقة غير مباشرة بتقدير التغيرات الكيماوية المعينة التى تحدث لأحد مكونات البيئة . فمثلا إذا عرف أن نوعا بكتيريا ينتج

أحماضا بتخميره لسكر الجلوكوز ، فكمية الحمض المتكونة تحت ظروف معينة وخلال فترة معينة تكون متلازمة مع المجموع البكتيرى فى المزرعة . وحقيقة أن تقدير كمية الأحماض أو ناتج تفاعل آخر يعتبر من الطرق غير المباشرة لتقدير النمو البكتيرى ويستعمل فقط تحت ظروف بحثية خاصة .

دورة النمو Growth Cycle

لقد وفرت الدراسات التى تمت على نمو المزارع البكتيرية فرصة فريدة لدراسة المشاكل العشائرية فى البكتيريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة . وحيث أن التزاوج الجنسى فى البكتيريا ليس شرطا من شروط نموها ، فالخلية البكتيرية الواحدة تكفى لإنشاء مجموع بكتيرى جديد . وهناك مجموعة من الطرق البحثية المختلفة تعتمد إعتماداً كليا على هذه الحقيقة مثل طرق زرع البكتيريا وعزل وتنقية الأنواع البكتيرية وإستعمال الطفرات البيوكيمائية وإيجاد سلالات مقاومة للمواد الكيماوية السامة .

وعند تلقيح بيئة غذائية بخلية بكتيرية واحدة فإنها تبدأ فى الإنقسام إلى خليتين وتستمر الخلايا الجديدة الناتجة فى الإنقسام المتكرر . والوقت الذى ينقضى بين تكوين الخلية وإقدامها على الإنقسام يعرف بالوقت الجيلى generation timeوكما سيتضح فيما بعد فإن فترة الوقت الجيلى هذه تعتمد على عدة عوامل منها السلالة البكتيرية ، وتركيب البيئة الغذائية ، ودرجة الحرارة ، وعمر المزرعة ويختلف الوقت الجيلى بدرجة كبيرة بإختلاف النوع البكتيرى تحت الظروف البيئية المثالية فهى تتراوح فى البكتيريات عموما بين أقل من ٢٠ دقيقة إلى عدة ساعات .

ويمكن تحديد تأثير الظروف البيئية المختلفة على الوقت الجيلى للبكتيريات بإستعمال المزارع البكتيرية النقية وتقدير معدل النمو Rate of growth على درجات الحرارة المختلفة أو فى وجود مصادر نيتروجينية مختلفة .

فإذا إفترضنا لقاحا بكتيريا مكونا من خلية بكتيرية واحدة لقحت به بيئة

غذائية طازجة . فإذا حدث الإنقسام فإن عدد الخلايا الناتجة (ب) يكون كالآتى

عدد الخلايا بعد الجيل الأول ب = ١ × ٢ = ١ × ٢^١ = ٢ خلية

عدد الخلايا بعد الجيل الثانى ب = ١ × ٢ × ٢ = (٢)^٢ أو ٤ خلية

عدد الخلايا بعد الجيل الثالث ب = ١ × ٢ × ٢ × ٢ = (٢)^٣ أو ٨ خلية

إذن فعدد الخلايا الناتجة (ب) بعد مرور عدد (ن) من الأجيال :

ب = ١ × ٢^ن خلية

وعادة لا تبدأ المزارع البكتيرية بخلية واحدة بل تبدأ بعدد من الخلايا قد يتراوح بين ١٠٠ — ١٠٠,٠٠٠ خلية فإن المعادلة فى هذه الحالة تعدل كما يلى ب = أ × ٢^ن حيث « ا » ترمز إلى عدد الخلايا فى اللقاح المستعمل. وفى أى فترة خلال نمو المزرعة يمثل عدد الخلايا البكتيرية مضاعفات للرقم ٢ . وحيث أن اللوغاريتمات هى عبارة عن مضاعفات للرقم الأساسى فإنه من المستحسن إستعمال لوغاريتمات أعداد الخلايا البكتيرية فى إجراء المنحنيات الخاصة بالنمو بدلا من الأعداد نفسها (شكل ٦٣) . وواضح من المعادلة الأخيرة ومن المنحنيات المبينة (شكل ٦٣) أنه عندما يثبت الوقت الجيلى فإن منحنيات النمو التى تصمم على أساس لوغاريتمات إعداد الخلايا مع زمن النمو تمثل خطوطا مستقيمة . وحيث أن معظم التجارب البكتيرية فى المزارع تبدأ بلقاح يحتوى على ألف خلية بكتيرية أو أكثر فإنه يسهل إستعمال مقياس لوغاريتمى للقاعدة ١٠ .

ويمكن كتابة المعادلة ب = ا × ٢^ن بإستعمال اللوغاريتمات كما يلى :

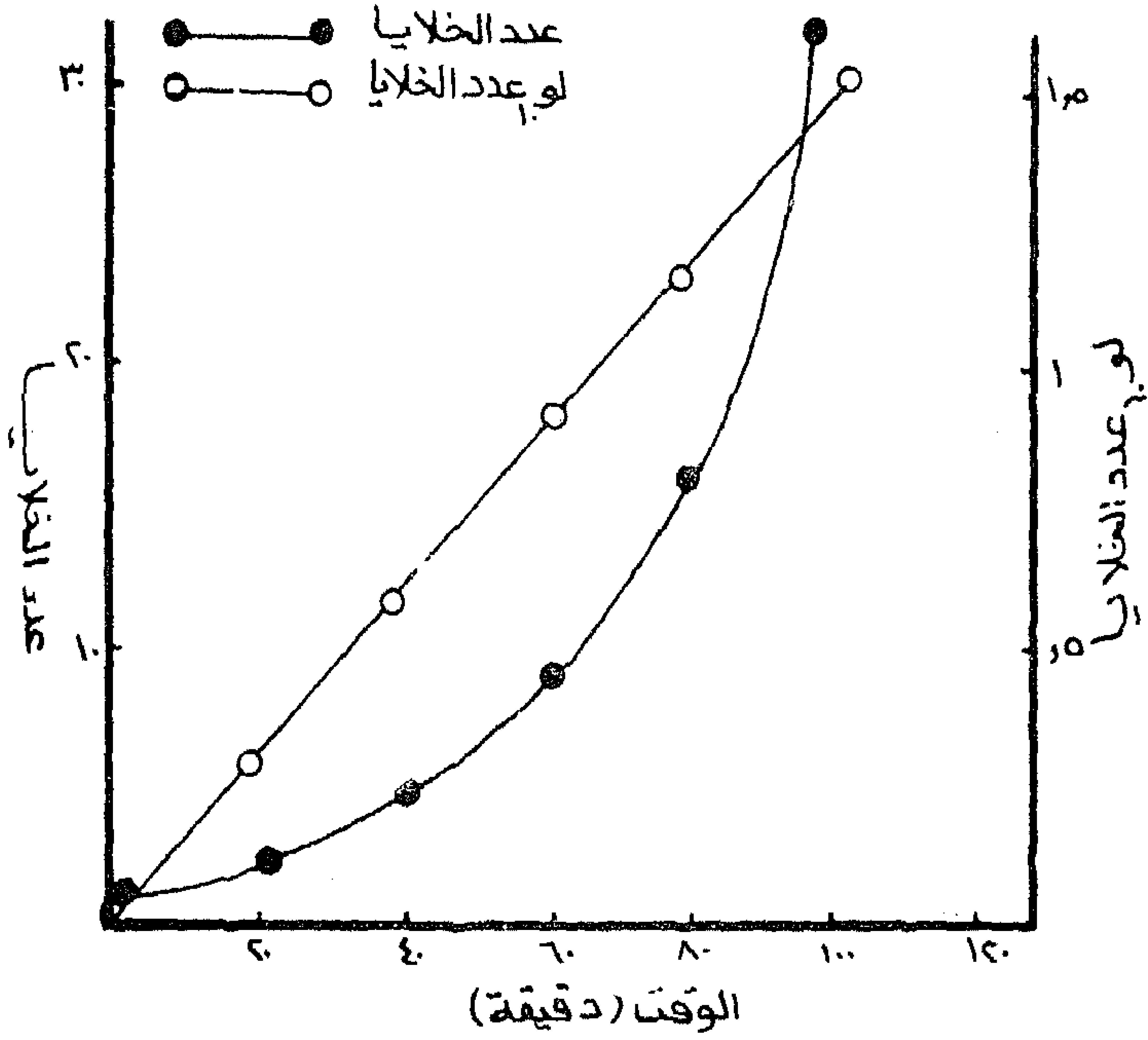
لو ١٠ ب = لو ١٠ ا + ن لو ١٠ ٢

= لو ١٠ ا + ن × لو ١٠ ٢

ولمعرفة عدد الأجيال (ن) التى حدثت بين تلقيح البيئة وأخذ العينة لتقدير عدد الخلايا بها تتبع المعادلة التالية :

$$ن = \frac{لو ب - لو ا}{لو ٢} = \frac{لو ب - لو ا}{٠,٣٠١٠}$$

ويمكن حساب متوسط الوقت الجيلى generation time (ج) خلال



شكل ٦٣ : مقارنة بين منحنيات النمو باستعمال البيانات على أساس العدد الفعلى للخلايا ولوغاريتمات هذه الأعداد لقاعدة ١٠ ، لاحظ أن الإنقسام يحدث كل ٢٠ دقيقة

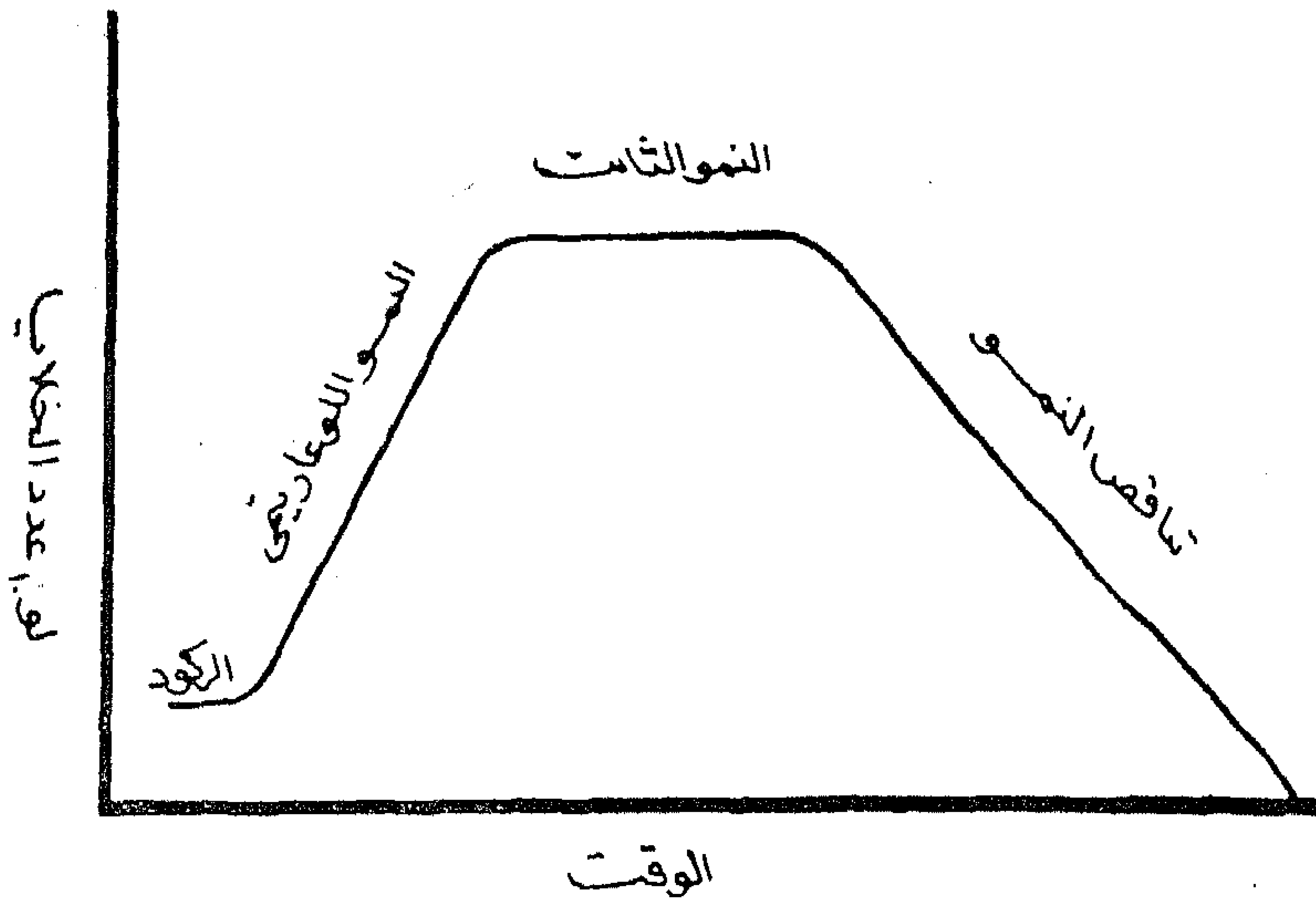
الفترة (ت) التى مرت بين التلقيح وأخذ العينة عند التعويض عن قيمة (ن) فى المعادلة السابقة كما يلى :

$$ج = \frac{\text{الوقت الذى يمر بين التلقيح وأخذ العينة}}{\text{عدد الأجيال}} = \frac{ت}{ن}$$

$$ج = \frac{ت}{\frac{\text{لو ب} - \text{لو ا}}{٠٫٣٠١٠}} = \frac{ت \times ٠٫٣٠١٠}{\text{لو ب} - \text{لو ا}}$$

والمثال النظرى السابق الإشارة إليه والذى بدأت المزرعة فيه بخلية بكتيرية واحدة والمبين منحنى نموه (شكل ٦٣) يبين أن الخلية بدأت فى الإنقسام بعد ٣٠ دقيقة من وضعها بالبيئة . وأن الوقت الجيلى ظل ثابتا فى الأجيال المتتابعة . إلا أنه عندما تلقح البيئات الغذائية بكمية من اللقاح فإن الإنقسام الخلوى لا يتم مباشرة ولا يظل الوقت الجيلى ثابتاً إلا بعد إنقضاء عدة أجيال . وأن المنحنى الحقيقى لنمو البكتيريا يتبع ذلك المبين فى (شكل ٦٤) .

يلاحظ من المنحنى أن البكتيريا تتوقف عن الإنقسام لفترة عقب تلقيح البيئة الغذائية . وبعد إنتهاء هذه الفترة تبدأ الخلايا فى الإنقسام ولكن ببطء ملحوظ ثم يسرع معدل الإنقسام حتى يصل إلى درجة يثبت عليها سرعة الإنقسام . وتعرف الفترة التى يتوقف فيها الإنقسام بإسم طور الركود Lag phase وفى هذه الفترة تحدث عدة تغييرات كيماوية داخل الخلية بالرغم من إمتناع الخلية عن الإنقسام . والفترة من دورة النمو التى تنقسم فيها الخلايا بسرعة واضحة والتى يثبت فيها الوقت الجيلى تعرف بطور النمو اللوغاريتمى logarithmic or exponential growth phase ويرمز له عادة بالرمز (Log phase) .



شكل ٦٤ : رسم بيانى لمنحنى نمو مزرعة بكتيرية يبين مواضع الأطوار المختلفة من النمو .

ويميل بعض الباحثين إلى إعتبار المرحلة الأولى من الطور اللوغاريتمى والتى يظهر بها زيادة متدرجة فى تعداد الخلايا طورا منفصلا يعرف بطور النمو المتزايد accelerated - growth phase ، والسبب فى تدرج النمو فى هذه الفترة أن الخلايا جميعاً لا تكمل فترة ركودها فى وقت واحد وينتهى هذا الطور القصير بإنتظام معدل النمو وبثبات الوقت الجيلى ودخول الخلايا فى الطور اللوغاريتمى .

وينتهى الطور اللوغاريتمى عندما يبطىء معدل التكاثر وتزداد فترة الوقت الجيلى ويثبت تعداد الخلايا الحية بالمزرعة ، عندئذ يقال أن المزرعة قد دخلت فى طورها الثابت من النمو Stationary phase وفى خلال هذه الفترة يكون هناك توازن بين عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة .

وقد يختل هذا التوازن حيث يزداد تعداد الخلايا الميتة عن تعداد الخلايا المنقسمة ، أو بمعنى آخر لا يكون هناك تعويض لمعدل الموت بتكوين خلايا جديدة ويعرف هذا الطور من النمو بطور الموت أو تناقص النمو decline or death pahse

هذا هو تسلسل أحداث النمو عندما تلقح بيئة غذائية بلقاح بكتيرى ، وبالرغم من أن شكل المنحنى قد يتغير قليلا تبعا للنوع البكتيرى أو لظروف النمو إلا أن إتجاهاته وأطواره لا تختلف كثيراً عن تلك المبينة (بشكل ٦٤) .

ويحسن هنا مناقشة الطرق التى يتم بها النمو والظروف التى يتأثر بها فى كل من الأطوار السابق الإشارة إليها .

أولا : طور الركود Lag phase

إن عدم حدوث الإنقسام فى هذه الفترة لا يجب أن يفهم منه أن الخلايا تتوقف عن النمو الفردى كلية . فالركود الملحوظ فى هذا الطور هو ركود فى عملية الإنقسام فقط ، ولكنه ليس ركودا فى عمليات التخليق البروتوبلازمى بداخل الخلية .

ومن الدراسات السيتولوجية التى أجريت على الخلايا فى هذا الطور تبين أنها تزداد فى الحجم لتصل إلى ضعف أو ثلاثة أضعاف حجمها الأصلى وكما سبق أن بينا أن الزيادة فى الحجم تلاحظ بدرجة أكبر فى البكتيريا العصوية

عنها فى الكروية . وقد بينت الدراسات البيوكيمائية زيادة معدل النشاط الأيضى للخلية خلال فترة الركود . كما بينت أيضاً زيادة كمية المكونات الأساسية للمحتويات النووية purines & pyrimidines والمحتويات البروتينية بالخلية ، إلا أن زيادة نسبة البروتين تكون أقل نسبيا من الزيادة فى المحتويات النووية .

والدراسات الكيماوية أظهرت أن هناك زيادة فى محتويات الخلية من RNA خلال هذه الفترة ، وهو من المكونات الأساسية للسيتوبلازم فى حين أن محتويات الخلية من DNA المميز للمحتويات النووية لم تتأثر نسبته بالخلية.وقد لوحظ أن محتويات الخلية البكتيرية من RNA عندما تدخل فى الطوراللوغاريتمى أى الطور التالى لطور الركود تكون متناسبة تناسبا عكسيا مع طول الوقت الجيلى فى حين أن محتويات الخلية من DNA لا تتأثر بطول أو قصر الوقت الجيلى . وقد أظهرت الدراسات البيوكيمائية الأخرى زيادة فى معدل تنفس الخلية البكتيرية أثناء فترة الركود وفترة النمو المتزايد عنها فى الأطوار التالية من النمو ويرجع ذلك إلى الزيادة فى حجم البروتوبلازم بالخلية حينئذ .

وإذا أخذ لقاح من مزرعة بكتيرية أثناء طورها اللوغاريتمى ولقحت به بيئة جديدة فإنه يمكن تقليل أو تلافى طور الركود حيث أن الخلايا وهى فى الطور اللوغاريتمى تكون مجهزة بكل ما يؤهلها للإنقسام المباشر عقب التلقيح . وبالمثل يمكن تقليل فترة الركود باستعمال كمية كبيرة من اللقاح من مزارع فى مراحلها النهائية من النمو ، ويعلل ذلك بزيادة كمية المواد المشجعة للأنقسام والتى يحملها اللقاح الكبير الحجم والذى يعتقد أنه RNA أو المواد المكونة له والتى ثبتت زيادة نسبتها بالخلايا أثناء طور الركود ، وأن هذه المواد المحمولة قد تنطلق فى البيئة العالق بها اللقاح أو تكون قد إنطلقت من الخلايا الميتة عقب تحللها الذاتى (autolysis) ، فى الأطوار النهائية من النمو .

ومن ناحية أخرى يمكن إطالة فترة طور الركود عند تلقيح البكتيريا فى

بيئة تختلف عن تلك التى كان اللقاح ناميا بها حيث أن تأقلم اللقاح للنمو على البيئة الجديدة يتطلب وقتاً أطول . ويمكن تقصير فترة الركود للبكتيريات غير ذاتية التغذية بنقل اللقاح من مزرعة نامية ببيئة بسيطة إلى بيئة معقدة كما يمكن إطالة فترة هذا الطور لمثل هذه البكتيريات عند إجراء التلقيح من مزرعة نامية فى بيئة معقدة إلى بيئة بسيطة .

والبكتيريا تكون أكثر حساسية للتغيرات الحرارية وهى فى طور ركودها فعندما تكون درجة الحرارة قريبة من الدرجة المثالية للنمو يمكن تقصير فترة الركود كما أن الزيادة أو النقص فى درجة الحرارة عن الدرجة المثالية يطيل من فترة هذا الطور . والخلايا أثناء طور الركود وكذلك أثناء طورها اللوغاريتمى من النمو تكون أكثر حساسية للحرارة المنخفضة ، حيث أنها تقتل بسرعة عقب تعريضها المفاجىء للحرارة المنخفضة بدرجة أكبر من تلك التى تكون قد وصلت إلى طورها الثابت من النمو . هذا والخلايا البكتيرية النشطة تكون أكثر حساسية من غيرها للتأثير بالمواد الكيماوية السامة .

ثانيا : طور النمو اللوغاريتمى : Log phase

سبق أن ذكرنا أن الوقت الجيلى يكون ثابتاً خلال الطور اللوغاريتمى من النمو . وطول الوقت الجيلى للنوع البكتيرى يتحدد عادة نتيجة لتفاعل العوامل الوراثية والظروف البيئية السائدة . فمثلا وجد أن الوقت الجيلى للبكتيريا *E.coli* هو عشرون دقيقة فى الظروف البيئية المناسبة لنمو خلاياها فى حين أن البكتيريا التابعة لجنس *Mycobacterium* يصل وقتها الجيلى إلى عدة ساعات فى الظروف المناسبة .

ويعزى إختلاف طول فترة الوقت الجيلى للبكتيريات المختلفة إلى تفاوت قدراتها التخليقية للبروتوبلازم لا إلى معدل أو سرعة الإنقسام حيث لوحظ أن الزيادة فى محتويات الخلايا من النيتروجين تكون متلازمة مع الزيادة فى عدد الخلايا خلال الطور اللوغاريتمى . وقد لوحظ أن درجة الحرارة أثناء فترة الحضانة تؤثر إلى حد كبير على معدل النمو أثناء هذا الطور . وحيث أن عمليات

النمو تعتبر عمليات كيمائية فإننا نتوقع إذن مضاعفة النمو كلما إرتفعت درجة حرارة الزرع بمقدار عشر درجات مئوية . وقد وجد أن هذا صحيح فى حدود معينة من الحرارة تتراوح بين ٢٠ — ٤٠°م . فى حدود هذا المجال نجد أن البروتين البكتيرى يتأثر قليلا أو بدرجة غير ملحوظة ولكن إذا إرتفعت درجة الحرارة عن ٤٠°م فإنه يحدث تثبيط حرارى للبروتين الإنزيمى بالخلية البكتيرية مما يقلل معدل النمو .

ودرجة الحرارة المثالية للنمو والتى عندها يكون الوقت الجيلى أقصر ما يمكن هى عبارة محصلة بين التأثير المنشط للتفاعلات الأنزيمية الخلوية نتيجة لإرتفاع درجة الحرارة وبين التأثير الضار للبروتين الأنزيمى ، ودرجة الحرارة المثالية لمعظم البكتيريات الميزوفيلية تقع بين درجة ٢٧ — ٤٢°م . ويمكن الحصول على محصول وافر من خلايا البكتيريا إذا إحتفظ بالمزارع على درجة من الحرارة تقل بعدة درجات من درجة حرارتها المثالية للنمو حيث يمكن بذلك تقليل التأثير الضار للحرارة على البروتين الأنزيمى لهذه الخلايا .

والبكتيريات المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic تتراوح درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٥٥°— ٦٠°م فكيف إذن يتحمل البروتين الأنزيمى لهذه الخلايا مثل هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة وكيف إذن يستمر النمو ؟ فقد وجد حديثا أن البروتين الأنزيمى لهذا النوع من البكتيريا لا يختلف عن مثيله فى البكتيريا الميزوفيلية والحيوانات ذات الدم الحار فى قدرته على العمل تحت هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة .

وعلاوة على ما تقدم فإن مكونات البيئة الغذائية يمكنها أيضاً أن تتحكم فى طول فترة الوقت الجيلى (سوف يناقش هذا بشىء من التفصيل فى الفصل الخاص بتغذية البكتيريا) . فمثلا إذا لم تتمكن الخلايا البكتيرية من تجهيز مادة غذائية معينة فيشترط إذن اضافتها إلى البيئة وتعرف هذه المواد المضافة بإسم المواد الغذائية الضرورية essential nutrients ، وبعض المواد يمكن

للخلايا تجهيزها بسرعة والبعض الآخر يجهز ببطء ، كما أن من المواد مالا يمكن للخلايا تجهيزها على الإطلاق ، من هنا يمكننا أن نتفهم مدى تأثير وجود أو غياب مثل هذه المواد على طول فترة الوقت الجيلى . وهناك بعض المواد تعتبر منشطة للنمو فقط بمعنى أنها ليست من المواد الضرورية essential ولكن وجودها بالبيئة يؤدى إلى تقصير فترة الوقت الجيلى . هذا ومجرد وجود المواد الغذائية بالبيئة لا يؤثر على معدل النمو وطول الوقت الجيلى فقط ، بل أن تركيز هذه المواد بالبيئة له أيضاً تأثير واضح على النمو ومعدلاته . لذلك فإنه يمكن إطالة فترة الوقت الجيلى فى مزرعة بكتيرية بتغيير بيئتها الغذائية أو بتقليل تركيز أحد مكوناتها .

إذا كان تركيز مكونات البيئة الغذائية محدودا فإن المحصول الكلى للنمو البكتيرى يكون متلازما مع هذا التركيز فالمزرعة تنمو فترة من الزمن ثم تتوقف عن الإنقسام نظراً لإستهلاك بعض أو كل محتويات البيئة من الغذاء . أما إذا أضيف المزيد من المواد الغذائية إلى هذه المزرعة فإنها تستعيد نشاطها ويبدأ الإنقسام الخلوى من جديد . ولكن عند الوصول إلى حد معين يتوقف النمو كلية حتى ولو توافرت المواد الغذائية بالبيئة حيث أن النمو لا يمكنه أن يستمر إلى مالا نهاية .

ثالثا — الطور الثابت : Stationary phase

هناك عدة أسباب تفسر السبب فى توقف المزرعة البكتيرية عن النمو عندما تصل إلى حد معين ، منها : نفاد المواد الغذائية من البيئة أو زيادة تركيز المواد الأيضية الناتجة عن النشاط الخلوى حيث أن هذه المواد قد تؤدى إلى خفض درجة pH البيئة إلى حد يمنع التكاثر أو أن تكون هذه المواد ذاتها سامة للخلايا النشطة . وتهوية المزرعة تعمل على أكسدة الأحماض العضوية أو المواد السامة وعدم تكدسها ، الأمر الذى يطيل من فترة الطور اللوغاريتمى أو يؤجل حاول الطور الثابت من النمو . وحتى تحت الظروف القياسية من التهوية والتغذية

فإن معدل التكاثر يبدأ فى التناقص حتى يتوازن مع معدل موت الخلايا. ويتوقف طول فترة هذا الطور على درجة حساسية الخلايا البكتيرية للظروف السائدة بالبيئة حيث يظل عدد الخلايا الحية المنقسمة ثابتا بها ، فكلما زادت حساسية الخلايا وكلما كانت الظروف غير ملائمة كلما قصرت فترة الطور الثابت من النمو .

رابعا – طور تناقص النمو أو طور الموت : The phase of decline or death

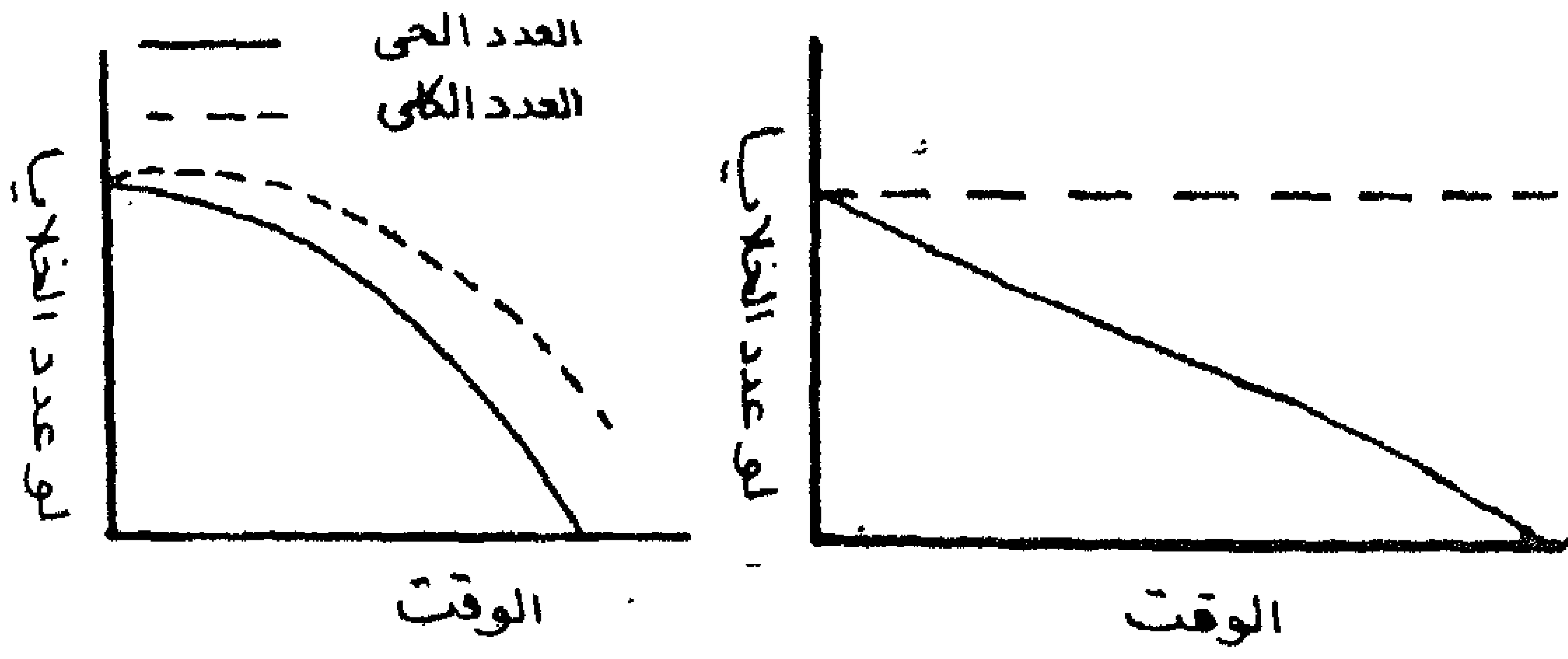
يعقب الطور الثابت حيث يبدو أن معدل موت الخلايا البكتيرية يزيد عن معدل التكاثر وتكوين خلايا جديدة . ويرجع ذلك إلى عدة أسباب تختلف بإختلاف النوع البكتيرى . والتحول المفاجىء من الطور الثابت إلى هذاالطور يتضمن معدلا لوغاريتميا لموت الخلايا وهو عكس المعدل اللوغاريتمى للنمو فى الطور اللوغاريتمى . وقد يستمر ثبات معدل الموت لعدة أيام أو أن تموت كل الخلايا خلال هذه الفترة تبعاً لنوع البكتيريا . فبينما نجد أن كل الخلايا لبعض الأنواع الكروية السالبة لصبغة جرام تموت خلال فترة ٧٢ ساعة أو أقل نجد أن بعض الخلايا فى مزارع البكتيريات الأخرى تظل حية لفترة تتراوح بين شهرين إلى عدة سنوات .

وفى حالة بعض مجاميع البكتيريا فإن موت الخلية غالباً لا يصاحبه تحلل للخلية وبذلك فإن الكتلة الخلوية تظل ثابتة أو تظهر قليلا من التدهور خلال هذه المرحلة بالرغم من موت عدد كبير من أفراد المجموع .

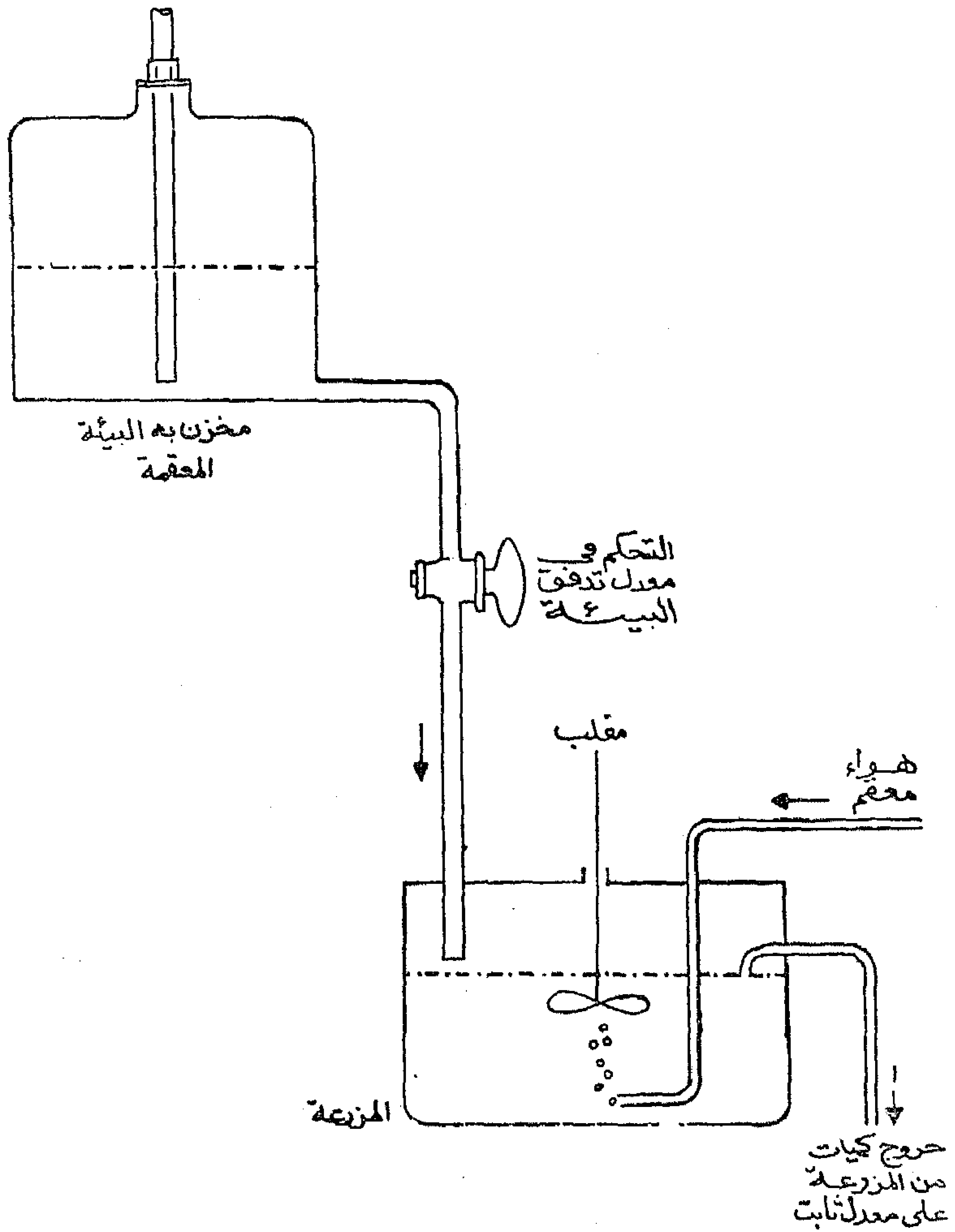
وقد يتبع الموت تحلل للخلايا وفى هذه الحالة فإن الكتلة تتدهور مع تدهور عدد الخلايا الحية كما يظهر فى الرسم البيانى بشكل ٦٥ .

المزرعة المستمرة : Continuous culture

المزرعة المستمرة هى المزرعة التى يحتفظ بها وهى فى المرحلة النشطة من النمو (الطور اللوغاريتمى) وذلك بتلافى جميع الظروف التى تؤدى إلى دخول المزرعة فى الطور الثابت وعادة يتم هذا الإجراء بإستمرار إزالة لجزء من



شكل ٦٥ : العلاقة بين عدد الخلايا الحية وعدد الخلايا الكلى فى مزرعتين فى حالة طور الموت : (الى اليمين) موت بدون تحلل الخلايا ذاتيا (الى اليسار) موت يصحبه تحلل ذاتى سريع



شكل ٦٦ : جهاز الـ Chemostat .

المزرعة وإضافة كمية مماثلة من البيئة الطازجة بدلا منها . كما تزود المزرعة بوسيلة فعالة للتهوية وذلك للعمل على أكسدة المواد السامة أو الحمضية التى قد تتكون بالمزرعة أثناء النمو وبذلك تستمر المزرعة فى النمو اللوغاريتمى ولاتدخل مرحلة الطور الثابت أو طور الموت . ويستعمل لذلك الغرض عدة تصميمات منها الـ Chemostat أو الـ Bactogen أو الـ turbidostat . والتى قام بتصميمها كلا من نوفيك وزيلارد Novick and Czilard (١٩٥٠) والجهاز وعاء (شكل ٦٦) يحتوى على معلق من البكتيريا يضاف إليه البيئة الطازجة تدريجيا على معدل بطىء ويخرج من الوعاء كمية من المزرعة على نفس المعدل بطريقة تمنع التلوث . والنظرية الأساسية وراء هذا الجهاز تتلخص فى إنه يجب أن تتلاءم سرعة إضافة البيئة الطازجة مع معدل نمو الخلايا بمعنى أن معدل النمو يتوازن غالباً مع معدل فقد الخلايا نتيجة لإضافة البيئة الطازجة . أما إذا زاد معدل النمو عن سرعة إضافة البيئة الطازجة فإن الخلايا ستستهلك الغذاء وربما أحد مكونات البيئة بدرجة أسرع ويتوقف النمو .

ويلاحظ أن الجهاز إذا كان مصمما على أن معدل التخفيف dilution rate

$$\left(\frac{\text{معدل دخول المواد الغذائية (لتر/ساعة)}}{\text{حجم وعاء المزرعة باللتر}} \right)$$

سوف يحفظ المزرعة على درجة ثابتة من التعكير (ناتج نمو الخلايا) يسمى الجهاز turbidostat نظراً لثبات درجة العكارة فى المزرعة . وأما ما نسميه بال Chemostat فهى تطلق على الجهاز عندما تكون أحد مكونات البيئة أو أحد نواتج التفاعل محددا لنمو المزرعة وأن إضافته أو إزالته يعمل على حفظ النمو على معدل ثابت .

المجاميع المختلطة :

إن المعلومات السابق بيانها فى هذا الفصل تم الحصول عليها من الدراسات التى أجريت على مزارع نقية ، ويبدو أنه يمكننا أن نتحكم فى الأطوار المختلفة

للنمو البكتيرى بتغيير الظروف المزرعية من غذاء وحرارة وتهوية . وقد يبدو لنا أن نفس العوامل قد تؤثر على النمو الطبيعى لمثل هذه البكتيريات بعيداً عن المعمل . ولكن تحت الظروف الطبيعية للبكتيريا ، تتأثر بعامل آخر قد تغير من دورة نموها ألا وهو تعايشها مع غيرها من الكائنات فى مزارع مختلطة وكما سبق أن بينا أن البكتيريات لا تتواجد فى الطبيعة فى مزارع نقية إلا نادراً كما يحدث فى بعض حالات التطفل أو تبادل المنفعة وأنه فى معظم الحالات تعيش البكتيريات فى مجتمعات مختلطة مع عديد من الكائنات الحية الأخرى التى تختلف عن بعضها فى الإحتياجات الغذائية وفيما تنتجه من مواد أيضية مختلفة . وأن هذا التعايش المختلط ليس فقط نتيجة لتفاعل الظروف البيئية مع كل كائن فى المجموع بل أيضاً نتيجة للعوامل البيولوجية المختلفة أعنى وجود الكائنات الأخرى وتأثير كل منها على الآخر .

وتأثير الإختلافات فى الظروف البيئية على المجاميع المختلطة قد تم دراسته بالتفصيل على محتويات التربة من الكائنات الحية الدقيقة حيث أن التغيرات فى قيمة pH أو درجة حرارة التربة أو فيما تحتويه من النيتروجين ينعكس فى ظهور تغيير واضح فى أنواع الكائنات الحية الدقيقة التى تسود بالتربة تحت مختلف الظروف . فإذا إستعملنا كمية من التربة لتلقيح بيئات مختلفة التركيب فإن الكائنات التى تنمو وتسود فى كل بيئة هى تلك التى تنمو بدرجة أكبر من غيرها من الكائنات على مثل هذه البيئة فمثلا إذا كانت إحدى البيئات محتوية على السليلوز كمصدر وحيد للكربون ، فإن الكائنات التى تسود فى مثل هذه البيئة ، هى تلك التى لها القدرة على تحليل السليلوز ويليها فى النمو تلك الكائنات التى تعيش على نواتج تحلل السليلوز أعنى السلوبيوز cellobiose أو الجلوكوز وهذه تتوفر بالبيئة عقب نمو الأنواع المحللة للسليلوز .

وبالمثل فإنه يمكن فصل المجاميع البكتيرية المختلطة والمكونة من بكتيريات ذات كفاءات تحليلية مختلفة بأتباع طريقة المزارع المقواه «Enrichment culture method» بهذه الطريقة يمكن عزل الكائنات المختلفة كالتى لها القدرة على تثبيت

الآزوت الجوى ، أو ذات قدرة على تحليل الجنين أو على إستعمال ك ا٢ كمصدر وحيد للكربون من المجاميع المختلطة . وقد يكون تعداد كل منها فى عينة التربة غير محدود إلا أنه يمكن لنا عن طريق التحكم فى الظروف البيئية بالمعمل وبإتباع طرق المزارع المقواه أن نطبق نظرية البقاء للأصلح تبعاً للظروف السائدة بالبيئة .

ومما هو جدير بالذكر أن نتائج دراسة مجاميع الكائنات الحية الأخرى تتشابه كثيراً مع تلك الخاصة بالبكتيريا . فإن الملاحظات المعروفة عن النمو المختلط لذبابة الفاكهة مع غيرها من الكائنات الحية قد أسفرت عن إيجاد منحنى موحد للنمو الجماعى لهذه الكائنات بشرط توافر الظروف البيئية المناسبة . وأن هذا المنحنى لا يختلف فى تفاصيله كثيراً عن منحنى النمو البكتيرى (شكل ٥٧) . وتبعاً لهذه النظرية فإن المجموع يصل إلى ذروته نتيجة لزيادة تعداد أفراده (عدد/وحدة مكانية) وأن الجزء الأخير من دورة النمو يكون مصحوباً بتناقص ملحوظ فى معدل النمو .

وهناك خلاف بين علماء الإجتماع وعلماء البيئة فى إمكانية تطبيق هذا القانون أعنى المنحنى الطبيعى للنمو على الإنسان والنبات والحيوان ، حيث أن الحالة الثقافية والأقتصادية وتوفر الغذاء والجو المناسب يعتبر من الظروف الهامة فى زيادة معدل نمو المجتمعات الإنسانية مما قد يؤثر على شكل طبيعة المنحنى . وقد يبدو الأمر مبالغاً فيه إذا ما قارنا تأثير الحروب على المجتمعات الإنسانية بتأثير المضادات الحيوية مثلا على المجاميع البكتيرية .

المراجع

Caspersson, T. 1947. The relation between nucleic acids and protein synthesis. Symposium of Soc. Exp. Biol., I. 127.

Gunsalus, I.C. 1951. «Growth of bacteria» in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds) «Bact.rial Physiology». Academic Press, New York, 1951.

Hinshelwood, C.N. 1964. The chemical kinetics of bacterial cell. The Clarendon Press, Oxford. 284 pages.

Lamanna, C., and M.F. Mallette, 1953. Basic bacteriology. The Williams and Wilkins Co. Baltimore.

Levy, J., J.J.R.Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and sons, New York.

Mitcel, P. and J. Moyle. 1951. Relations between growth, surface properties, and nucleic acid production in normal and penicillin-treated *Micrococcus pyogenes*. J. Gen. Microb., 5 : 421.

Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol. 3:371

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York

Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit. 1954. An introduction to bacterial physiology. W.H. Freeman and Co. San Francisco. pages 49-66.

Pelezar, M.J. and R.D. Reid. 1958. Microbiology. I Mc. Graw - Hill Book Co. N. Y., Toronto, London pages 64 - 75.

Porter, J.R. 1949. Bacterial chemistry and physiology. John Wiely and sons, New York pages 93 - 143.

Rahn, O. 1932. Physiology of bacteria. P. Blakistton sons and Co., Philadelphia. pages 162 - 269.

الفصل الثانى

الاحتياجات الغذائية Nutritional Requirements

تحتوى الخلية البكتيرية على ٨٠ – ٩٠٪ من وزنها الكلى من الماء وهو يعتبر من أهم محتويات الخلية من الناحية الكمية والإيدروجين والأوكسوجين والكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت تمثل حوالى ٩٥٪ من الوزن الجاف الخلوى كما توجد عناصر أخرى مثل البوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم والحديد والمنجنيز والكوبالت والنحاس والموليبدنم والزنك (جدول ٤ وجدول ٥) بنسب قليلة .

يمكن إمداد الخلية البكتيرية بإحتياجاتها من العناصر الغذائية المعدنية وذلك بإضافتها على صورة أملاح يمكن للخلية أن تحصل منها على الكاتيونات المنفردة وتختلف العناصر المعدنية فى مدى إحتياج البكتيريات المختلفة إليها فالبوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم والحديد تحتاجها الخلايا بكميات عالية نسبيا لذا فكان من الواجب أن توفر دائماً فى صورة أملاح فى بيئة الزرع أما إحتياجات البكتيريات بوجه عام من المنجنيز والكوبالت والموليبدنم والزنك فهى إحتياجات صغيرة جداً بدرجة أنه توجد صعوبة لتحديد مدى ضرورة إضافتها إلى البيئة حيث أنها توجد مكونة للمكونات غير العضوية الأساسية فى البيئة بكميات مناسبة للنمو وعادة يشار إلى مثل هذه العناصر بأنها عناصر غذائية صغرى micronutrients أو trance elements . وهناك عنصر يمكن إعتباره من العناصر غير المعدنية ألا وهو الفوسفور يمكن أيضاً أن يضاف إلى بيئة النمو كمادة غذائية فى صورة غير عضوية كاملاح الفوسفات . وعنصر الصوديوم فلم يمكن إثبات إحتياجه لكثير من الكائنات الحية الدقيقة إلا أن بعض البكتيريات البحرية وبعض البكتيريات الممثلة للضوء تحتاجه بكميات كبيرة نسبيا . وفى هذه المجاميع البكتيرية التى تحتاجه لا يمكن أن يحل محل الصوديوم أى كاتيونات أحادية التكافؤ أخرى .

جدول رقم ٤ : المحتوى العنصرى التقريبى لخلايا البكتيريا
Escherichia coli

العنصر	النسبة المئوية للوزن الجاف
كربون	٥٠
أكسجين	٢٠
نيتروجين	١٤
هيدروجين	٨
فوسفور	٣
كبريت	١
بوتاسيوم	١
صوديوم	١
كالسيوم	٥ر
مغنسيوم	٥ر
كلسور	٥ر
حديد	٢ر
باقى العناصر	٣ر

جدول ٥ : الوظائف الفسيولوجية العامة للعناصر الأساسية

العنصر	الوظائف الفسيولوجية
الإيدروجين	أحد مكونات الماء الخلوى — المواد الخلوية العضوية .
الأكسجين	أحد مكونات الماء الخلوى — المواد الخلوية العضوية .
الكربون	المكون الرئيسى فى المواد الحاوية العضوية .
النيتروجين	يدخل فى تكوين البروتين والأحماض النووية ، ومرافقات الإنزيمات .
الكبريت	مكون للبروتين (مثل الأحماض الأمينية سستيين وميثيونين) — ومرافقات الإنزيمات مثل CoA و cocarboxylase
الفوسفور	مكون للأحماض النووية والفوسفوليبيدات ، ومرافقات الإنزيمات .
البوتاسيوم	أحد الكاتيونات الأساسية فى الخلايا ويعتبر cofactor لبعض مرافقات الإنزيمات .
المغنسيوم	كاتيون خلوى هام ويعتبر cofactor لكثير من التفاعلات الإنزيمية التى تشتمل على ATP — له وظيفة للمساعدة فى ربط مواد التفاعل بالإنزيمات — أحد مكونات الكلوروفيل البكتيرى .
المنجنيز	cofactor لبعض الإنزيمات — فى بعض الأحيان يحل مكان المغنسيوم .
الكالسيوم	كاتيون خلوى هام — cofactor لبعض الإنزيمات مثل الإنزيمات المحللة للبروتين .

تابع جدول ٥

الحديد	من مكونات السيتوكرومات — Cofactor عامل مصاحب لبعض إنزيمات التنفس .
كوبالت	أحد مكونات فيتامين ب ١٢ والمرافق الإنزيمى المشتق منه .
النحاس والزنك والموليبدنم	من مكونات بعض الإنزيمات والأخير له دور فى عملية تثبت الآزوت الجوى .

أما عن إحتياجات البكتيريا من الكربون والنيتروجين والكبريت والأوكسوجين فلا يمكن وصفها بسهولة نظراً لأن البكتيريات تختلف فى الصورة الكيماوية المتخصصة التى يجب أن توفر بها هذه العناصر كمواد غذائية

فمصدر الكربون قد يكون عبارة عن ثانى أكسيد الكربون (ك ا$_{٢}$) أو كربون عضوى . والبكتيريات التى تحتاج إلى الكربون العضوى قد تختلف فى إحتياجاتها للمواد العضوية الكربونية . فمثلا بعض أنواع الجنس *Pseudomonas* تستطيع إستعمال واحد من ٩٠ مركب كربونى عضوى مختلف كمصدر وحيد للكربون والطاقة فى حين أن البكتيريا التى تؤكسد الميثان تستعمل فقط أحد مصدرين من المواد الكربونية العضوية الميثان أو كحول الميثيل . وبعض البكتيريات التى تحلل السيليولوز تستعمل السيليولوز فقط كمصدر وحيد للكربون .

أما عن مصدر النيتروجين فقد يوفر على صورة غير عضوية مثل غاز النيتروجين (ن$_{٢}$) أو الأمونيا أو أملاحها أو على صورة أملاح نترات أو نيتريت أو أن يوفر على صورة نيتروجين عضوى كالأحماض الأمينية أو الببتيدات أو البروتينات . هذا وتحصل البكتيريات على إحتياجاتها من الكبريت من يد$_{٢}$كب

جدول ٦ : علاقة بعض الفيتامينات القابلة للذوبان فى الماء بالمرافقات الإنزيمية :

الفيتامين	المرافق الإنزيمى	التفاعل الإنزيمى المشتمل على المرافق الإنزيمى .
حمض النيكوتينيك (نياسين)	NAD , NADP	تفاعلات إزالة الإيدروجين .
ريبو فلافين (فيتامين ب٢)	FAD, FMN	بعض تفاعلات إزالة الإيدروجين - نقل الإلكترونات .
الثيامين (فيتامين ب١)	Thiamin pyrophosphate (cocar boxylase)	تفاعلات إزالة الكربوكسيل وبعض التفاعلات التى تشتمل على نقل مجموعة .
بيريدوكسين (فيتامين ب٦)	Pyridoxal phosphate	ميتابوليزم الأحماض الأمينية Transamination Deamination Decarboxylation
حمض البانتوثينيك	Coenzyme A	أكسدة الـ Keto - acids ميتابوليزم الأحماض الدهنية .
حمض الفوليك	Tetrahydrofolic acid	نقل وحدات من ذرة كربون واحدة .
Lipoic acid	Lipoic acid	نقل الأيدروجين و acyl transfer,
بيوتين	Prosthetic group of biotin enzymes	تثبيت ك $أ_٢$ — نقل الكربوكسيل
Cobamide (فيتامين ب١٢)	Cobamide coenzymes	تفاعلات إعادة الترتيب الجزيئى

أو الكبريتات أو الكبريتيدات أو من المركبات العضوية التى تحتوى على مجاميع السلفهيدريل (مثل الحمض الأمينى سيستين) .

أما الأكسجين فيعتبر المكون الأساسى فى الماء وفى المركبات العضوية فإنه يضاف بكميات كبيرة فى المادة الغذائية الرئيسية وهى الماء إلا أن كثير من البكتيريات فتحتاج إليه كأكسجين جزيئى ($أ_٢$) . وهذه الكائنات الهوائية التنفس تستعمل الأكسجين كعامل أكسدة نهائى أو مستقبل نهائى للإيدروجين أو الإلكترونات للحصول على الطاقة وتسمى هذه الكائنات هوائية إجباراً Obligately aerobic . وتوجد كائنات دقيقة أخرى تحصل على الطاقة اللازمة عن طريق التفاعلات التى تتضمن عمليات أكسدة وإختزال دون أن يكون للأكسجين الجزيئى دور فيها بل ويعتبر الأكسجين فى كثير من الأحيان مادة سامة حيث أن وجوده يقتل الخلايا أو يثبط نموها وتعرف هذه الكائنات بأنها غير هوائية إجباراً Obligately anaerobic . وهناك مجموعة من الكائنات تقع بين الكائنات الهوائية وغير الهوائية إجباراً وهذه تعرف بأنها غير هوائية إختياراً Facultative anaerobic ، وهذه تنمو فى وجود أو فى غياب الأكسجين الجزيئى . وبعض الكائنات تستطيع أن تنمو بدرجة أفضل عند وجود ضغوط منخفضة من الأكسجين (أقل من الأكسجين الموجود فى الجو) ويطلق عليها microaerophilic .

عوامل النمو Growth factors

هناك مواد عضوية معقدة تحتاج إليها بعض البكتيريات غير القادرة على تخليقها ويجب إضافتها إلى بيئة النمو وتعرف هذه المواد العضوية بإسم عوامل النمو growth factors فهى إذن مواد عضوية يحتاجها الكائن لتساعد فى العمليات الإنزيمية أو لتدخل كأحد المواد المبدئية precursor لتخليق مادة عضوية خلوية هامة لا يستطيع الكائن أن يخلقها من المصادر الكربونية البسيطة.

وعوامل النمو العضوية يقصد بها عادة المواد التى تعرف بالفيتامينات vitamins (جدول ٦) وهذه غالباً تدخل فى تركيب العديد من المرافقات الإنزيمية

أو تعمل كما هى كمرافقات إنزيمية لعديد من الإنزيمات . ولكن فى بعض الأحيان يتحدد النمو نتيجة لغياب واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية أو واحد أو أكثر من القواعد البيورينية أو البايريميدنية purines and pyrimidines وفى هذه الحالة يمكن إعتبار هذه المواد الأخيرة تجاوزا عوامل نمو . وكما سبق أن ذكرنا أن عدم قدرة الكائن على تخليق أو بناء أى من هذه المواد اللازمة لحياة الخلية وأن ذلك يستدعى إضافته إلى البيئة كعامل نمو .

تقسيم البكتيريات من الوجهة الغذائية

عند القيام بتصنيف وتجميع البكتيريات فى مجاميع غذائية يجب أن نأخذ فى إعتبارنا طبيعة مصدر الطاقة التى تحصل عليها المجموعة وكذلك طبيعة مصدر الكربون الأساسى بغض النظر عن مدى الإحتياج أو عدمه لعوامل النمو المتخصصة .

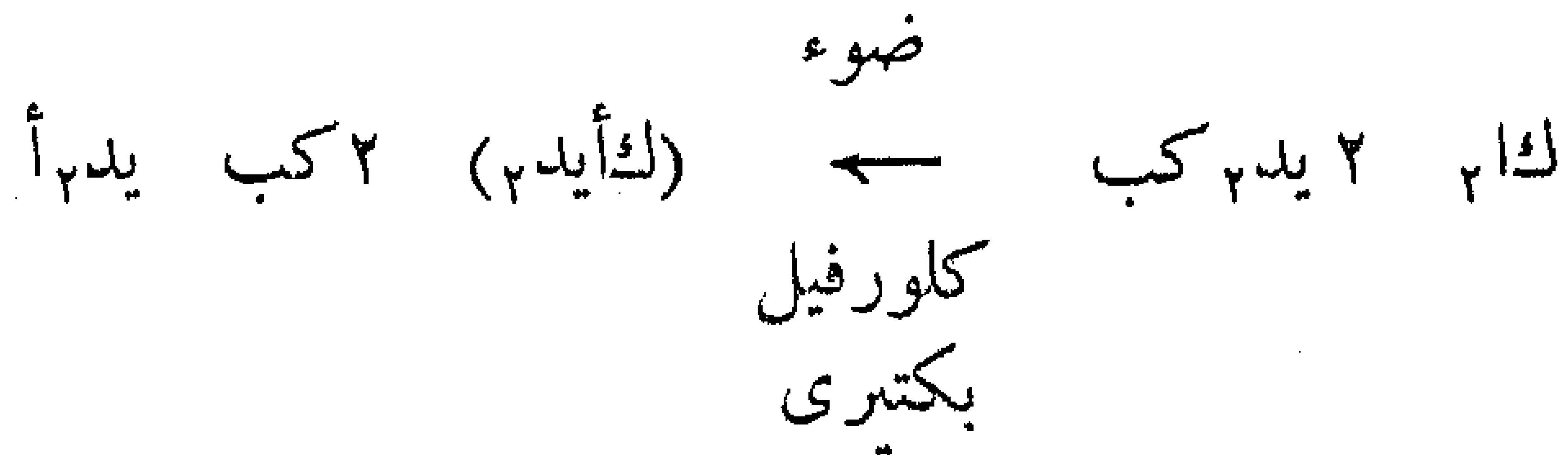
فالبكتيريات التى تستعمل الضوء كمصدر للطاقة تضم إلى مجموعة البكتيريات الممثلة للضوء Phototrophic (photosynthetic) أما البكتيريات التى تستعمل مادة كيماوية كمصدر للطاقة فتضم إلى المجموعة التى تعرف بأسم Chemotrophic (Chemosynthetic) . أما من حيث مصدر الكربون فإن الكائنات التى تستطيع إستعمال $ك أ_2$ كمصدر وحيد أو أساسى للكربون اللازم لحياتها فتضم إلى المجموعة التى تعرف بإسم ذاتية التغذية Autotrophic أما التى لا تستطيع إستعمال $ك أ_2$ كمصدر وحيد أو مصدر أساسى للكربون ويلزم لها كربون عضوى فتضم إلى المجموعة المعروفة بإسم غير ذاتية Heterotrophic ونتيجة للإعتبارين السابقين فقد أمكن تقسيم البكتيريات من الناحية الغذائية إلى المجاميع الأربع التالية والمبينة بالجدول رقم ٧ :—

١ — بكتيريا ممثلة للضوء ذاتية التغذية Photoautotrophic bacteria

تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة وتستعمل $ك أ_2$ كمصدر رئيسى للكربون

أو تستطيع إستعمال ك أ٢ كمصدر وحيد للكربون . مثل بكتيريا الكبريت الخضراء Green suffuf bacteria والتى تنتمى للعائلة Chlorobiacoae ويلاحظ أن بعض السلالات التى تنتمى لهذه العائلة تحتاج إلى فيتامين ب١٢ .

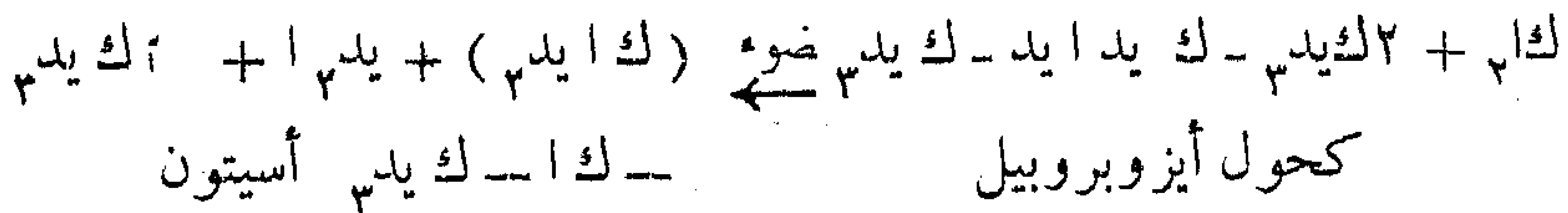
ويتم تكوين الكربوهيدرات من ك ا٢ فى وجود يد٢ كب كمعطى — للأيدروجين والكبريت الناتج يترسب خارج الخلايا .



٢ — بكتيريا ممثلة للضوء غير ذاتية التغذية

Photoheterotrophic bacteria

تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة وتستعمل مركبات كربون عضوية كمصدر رئيسى للكربون مثل البكتيريا القرمزية غير الكبريتية Purple nonsulfur bacteria والتى تنتمى للعائلة Rhodospirillaceae . ويلاحظ أن معطى الإيدروجين فى هذه الحالة يكون عبارة عن مادة عضوية مثل الكحولات أو الأحماض الدهنية أى أنها تحتاج إلى كربون عضوى وتقوم فى نفس الوقت بعملية التمثيل الضوئى .



٣ — بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية

Chemoautotrophic bacteria (Chemolithotrophs)

تحصل على الطاقة اللازمة لها بطريق كيماوى وتستطيع تثبيت ك ا٢ وإستعماله

جدول (٧) : يوضح المجاميع الغذائية الرئيسية للبكتيريا

نوع التغذية	مصدر الطاقة	مصدر الكربون	مصدر النيتروجين (أقل الإحتياجات)	الإحتياج لعوامل النمو
١ – بكتيريا ممثلة للضوء ذاتية التغذية Photoautotrophic bacteria	الضوء	$ك أ_2$	الأمونيا	بعض السلالات تحتاج ب ١٢
٢ – بكتيريا ممثلة للضوء وغير ذاتية التغذية Photoheterotrophic bacteria	الضوء	$ك أ_2$ وكربون عضوى	الأمونيا	معظم السلالات تحتاج إلى واحد أو أكثر من الفيتامينات
٣– بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية Chemoautotrophic bacteria (Chemolithotrophic)	أكسدة مادة كيماوية مثل الأمونيا	$ك أ_2$	الأمونيا	—
٤ – بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية Chemoheterotrophic bacteria أمثلة :– Azotobacter spp.	أكسدة السكريات وغيرها من مركبات الكربون العضوية	كربون عضوى	$ن_2$	؟

Rhizobium spp	»	»	كربون عضوى		ن٢	
E. coli (السلالة البرية)	»	»	»	»	أمونيا أو نترات	—
E. coli (طفرات معينة)	»	»	»	»	حمض أميني أو أكثر	فيتامين أو أكثر
Proteus vulgaris	»	»	»	»	أمونيا أو نترات	نياسين (ب٥)
Ssalmonella typhosa	»	»	»	»	أمونياأونترات بعض السلالات تحتاج حمض أميني واحد	
Sstreptococcus pyogenes	»	»	»	»	بعض أحماض أمينية وبعض مركبات نيتروجينية عضوية	مجموعة من فيتامينات ب
Lactobacillus arabinosus	»	»	»	»	عديد من الأحماض الأمينية	مجموعة من فيتامين ب وبيورينات وبيريميدينات
Treponema pallidum (السلالات الممرضة منها)	يصعب جدا تنميتها فى المعمل الابتلقيحها فى أنسجة حية مثل خصية الأرنب					

كمصدر أساسى للكربون . وأن إستعمال كا٢ كمصدر أساسى للكربون فى هذه المجموعة يصاحبه دائماً القدرة على أكسدة مواد غير عضوية مختزلة والحصول على الطاقة (مثل أكسدة نيد٣ أو أكسدة نا٢ أو أكسدة أيونات الحديدوز أو أكسدة بعض مركبات الكبريت المختزلة مثل يد٢كب أو كب أكسدةيد٣)

ومن أمثلة هذه البكتيريات أنواع جنسى *Nitrosomonas* التى تحصل على الطاقة اللازمة لها من أكسدة الأمونيا إلى نتريت .



وهذه الطاقة تستعمل فى إختزال مصدر الكربون الأساسى لها وهو كا٢ إلى مستوى الكربوهيدرات .

ومثال آخر هو البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* تؤكسد الكبريت للحصول على الطاقة اللازمة لإختزال كا٢



٤ — بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية

Chemoheterotrophic bacteria (Chemoorganotrophs)

تعتمد على مصدر طاقة كيماوى وتستعمل مركبات عضوية كمصدرأساسى للكربون . ويعمل مصدر الكربون العضوى كمصدر للطاقة والكربون.ومعظم البكتيريات تقع ضمن هذه المجموعة. (يلاحظ أن الحيوانات الراقية والبروتوزوا والفطريات تماثل هذه المجموعة من الوجهة الغذائية) .

ويختلف مصدر النيتروجين وكذلك الإحتياج للفيتامينات إختلافا كبيرا فى البكتيريات التابعة لهذه المجموعة . فمنها ما تستعمل الآزوت الجوى كمصدر

للنيتروجين مثل البكتيريا المثبتة للآزوت مثل *Rhizobium* spp. والـ *Azotobacter* spp. (عندما توجد في معيشة تعاونية مع النبات) . أو قد يكون مصدر نيتروجين في صورة أملاح مثل الأمونيا أو النترات ولا تحتاج في نفس الوقت إلى الفيتامينات كما في حالة السلالة البرية من *E. coli* و *Serratia marcescens* و *Aerobacter aerogenes* و *Pseudomonas aeruginosa* فمثل هذه الكائنات الأربعة الأخيرة تستطيع أن تخلق عوامل النمو والبروتين والدهون والأحماض النووية وغيرها من مكونات الخلية إذا نميت في بيئة تركيبية بسيطة تتكون من الجلوكوز كمصدر للطاقة والكربون وفوسفات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين وبعض المكونات غير العضوية البسيطة.

(ن يد٤) يدفوا٤	٦٠ ملليجرام
لثيد٢فوا٤	٤٠ ملليجرام
ص كل	١٠٠ ملليجرام
ح كبا٤ · ٧يد٢ا	١ ملليجرام
مغ كبا٤ · ٧يد٢ا	٥ ملليجرام
جلوكوز	٢ جرام
ماء	إلى ١٠٠ ملليلتر

وتوجد بكتيريات تقع ضمن هذه المجموعة إلى حمض أميني واحد أو فيتامين واحد أو قد تحتاج لأكثر من ذلك . فمثلا معظم سلالات *Salmonella typhosa* ، تحتاج إلى الحمض الأميني تريبتوفان في حين أن *Proteus vulgaris* تحتاج إلى حمض النيكوتينيك . أما *Lactobacillus arabinosus* فتحتاج على الأقل إلى ٢٤ مادة منها أحماض أمينية وفيتامينات و بيورينات Purines وبيريميدنات Pyrimidines .

ويلاحظ أنه يقع ضمن هذه المجموعة من البكتريات أفراد يصعب تنميتها على البيئات الغذائية حتى ولو وفرت لها كثير من المواد الغذائية النقية إذ يلزم لنموها وتكاثرها وجود أنسجة حية وتعرف هذه الكائنات بالطفيليات الإجبارية

التغذية المختلطة (Mixotrophic) Mixotroph

يستعمل إصطلاح Mixotroph للدلالة على أن البكتريات الممثلة للضوء تكون قادرة على النمو إما فى وجود أو فى غياب الضوء أو يستعمل لإظهار أن الكائن قد يكون قادرا على إستعمال مواد مختلفة عضوية أو غير عضوية يد٢كب كمصدر للطاقة أو كمصدر للكربون . ومن الأمثلة على ذلك أن بكتيريا الكبريت الخضراء (chlorobiaceae) فهى قادرة على التمثيل الضوئى وتكوين الكربوهيدرات من ك أ٢ فى وجود مادة كمعطية للإيدروجين وهى يد٢كب فى هذه الحالة . إلا أنه فى بعض الأحيان يمكن لبعض السلالات التابعة لهذه العائلة أن تمثل الضوء مع استعمال بعض المركبات العضوية البسيطة مثل الخلات فى وجود كل من ك أ٢ وكبريتيد الإيدروجين لذلك فهى تعتبر مختلطة التغذية mixotrophic .

وقد وجد أن ذلك صحيح أيضاً فى حالة بكتيريا الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria فإنها تستطيع إستعمال ك أ٢ كمصدر وحيد للكربون فى وجود يد٢كب أو الكبريت . ولكن معظم السلالات تستطيع تمثيل ضوئيا Photoassimilate عديد من المركبات العضوية مثل الخلات أو البيروفات .

كما وجد أن بعض من سلالات الـ *Beggiatoa* تستطيع أن تعيش بطريقة ذاتية التغذية autotrophically تحت ظروف معينة إلا أن كل سلالاتها تنمو أيضا فى وجود تركيزات منخفضة من الخلات وعلى ذلك فلا تعتبر ذاتية التغذية إجبارا Obligate chemolitholro-fs ولكن مختلطة التغذية mixotrophic .

ومن أمثلة البكتيريات المختلطة التغذية أيضا تلك البكتيريات التى يمكنها أن تمثل الهيدروجين *Hydrogenomonas facilis* (وتسمى الآن *Pseudomonas facilis*) فهى تؤكسد الهيدروجين بواسطة الأوكسجين وتنطلق الطاقة التى تستعمل فى إختزال CO_2 إلى كربوهيدرات وذلك عندما تنمو بطريقة ذاتية التغذية. إلاأن هذه البكتيريات يمكنها أن تعيش أيضا بطريقة غير ذاتية حيث يمكنها أن تستغنى عن عملية تمثيل أو أكسدة الهيدروجين للحصول على طاقتها إذا زرعت فى بيئة عادية بها سكريات كمصدر للطاقة والكربون .

التداخل الغذائى بين الكائنات

Nutritional interactions among organisms (syn trophy)

عندما يوضع كائنين أو أكثر فى بيئة معا فإن المجموع الكمى والنوعى للنشاط الأيضى قد يختلف عن نشاط كل كائن منها عندما ينمو بمفرده فى نفس البيئة من الناحية الكمية والوصفية .

وقد ثبت أن هذه الظواهر تنشأ من التداخل الأيضى أو الغذائى بين الكائنين ويطلق على هذه الظواهر مجتمعة إسم syntrophic أو synergistic effects .

ولإيضاح ما تقدم نذكر أن الكائنات التى تخلق موادها الخلوية من مواد عضوية بسيطة فى البيئة تستطيع غالبا أن تفرز كميات بسيطة من الفيتامينات أو الأحماض الأمينية والتى تعتبر ضرورية ess ntial لنمو غيرها من الكائنات الدقيقة . وهذا يسمح بتكشف الطرز التى تحتاج إلى هذه المواد .

أما ظاهرة الـ cross- feeding فتعتبر علاقة غذائية أكثر تعقيدا بين الكائنات وفيها يعتمد كل كائن على الآخر فى بعض العناصر الغذائية الضرورية فى ظروف نقص التغذية لكل منهم بمفرده. فمثلا بعض الكائنات الدقيقة لا تستطيع تخليق قاعدة بيريميدين Pyrimidine فى جزىء الثيامين

Thymin في حين أن كائنات أخرى لا تستطيع تخليق الثيازول thiazole في جزيء الثيامين . ولكن في بعض الظروف فإن مثل هذه الكائنات تنمو معا في البيئة التي لا تحتوى على أي من بيريميدين أو الثيازول حيث أن كل منهم يمد الآخر بالمادة الغذائية المطلوبة له .

التغذية والتطور :

تختلف أفراد البكتيريات كثيرا في احتياجاتها الغذائية . فالبرغم من سعة مجال احتياجات هذه البكتيريات من مصادر النشاط energy supply ومصادر الكربون والنيتروجين إلا أنها جميعا تستعمل طرقا موحدة في استغلال الطاقة وفي بناء وحداتها البروتوبلازمية . ففي أحد أطراف مجال الاحتياجات الغذائية (جدول رقم ٧) نجد أن بعض البكتيريات يمكن أن تنمو في بيئات بسيطة جداً مكونة من أملاح الامنيوم في وجود غاز ثاني أكسيد الكربون ، وعن طريق أكسدة أو اختزال هذه المواد البسيطة يمكن لخلايا هذه البكتيريات أن تولد الطاقة اللازمة لبناء بروتوبلازمها المعقد التركيب والمكون من بروتينات ودهون ، وكربوايدرات وبروتينات نووية وغير ذلك من المواد المعقدة . وفي الطرف الآخر من المجال (جدول رقم ٧) فأننا نجد بعض البكتيريات لا تستطيع النمو إلا إذا أضيف إلى بيئة النمو كربون عضوى (جلوكوز) ، وأحماض أمينية ، وأحماض نووية أو مكوناتها (purines, pyrimidines) وفيتامينات ، حيث أن هذه الكائنات تخمر سكر الجلوكوز مبدئيا للحصول على ما يلزمها من طاقة . وبين هاتين المجموعتين من البكتيريا تقع مجاميع بكتيرية عديدة أخرى تتدرج في تعقيد احتياجاتها الغذائية ، ويمكن التمييز بينها على أساس احتياجاتها من المصدر الكربوني . فالبكتيريا التي تستعمل ثاني أكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون تعرف بالبكتيريات ذاتية التغذية autotrophes والبكتيريات التي لا تقدر على ذلك بل تتطلب مصدرا عضويا من الكربون تعرف بالبكتيريات غير ذاتية التغذية heterotrophes.

والبكتريات ذاتية التغذية يمكنها أن تنمو وتتكاثر على بيئات غير عضوية كلية تتركب من أملاح معدنية فى وجود ك ا ٢ ، والبكتيريات غير ذاتية التغذية قد تستعمل مصدرا غير عضوى أو عضوى من النيتروجين ولكنها فى كل الحالات تتطلب مصدرا عضويا من الكربون . ويمكننا هنا أن نتساءل عن أى المجموعتين نشأ من الآخــر أثناء نشوئه وتطــوره ؟ . من المصطلح عليـه أن البكتريات جميعا نشأت وتطورت من أجداد ذاتية التغذية كانت تستعمـل المصادر الغذائية غير العضوية وتستعمل الطاقة المتكونة فى تحويل ثانى أكسيد الكربون إلى مركبات عضوية بروتوبلازمية ، وأن بعض البكتيريات قد فقدت هذه الخصائص واحدة تلو الأخرى على مر الزمن . وأن التدرج فى الاحتياجات الغذائية الذى تظهره البكتيريا ما هو إلا نتيجة هذا التطور بعيداً عن ذاتيــة التغذية autotrophism ومتجها نحو الاعتماد فى الحصول على الغذاء على كائنات حية أخرى كما هو الحال فى ظاهرة التطفل وهى آخر مراحل هـذا التطور .

ومن الناحية الأخرى قد يعتقد البعض أنه لما كانت البكتيريات غير ذاتية التغذية تعتبر أبسط من ذاتية التغذية فى قدراتها التخليقية فيمكن القول أن البكتيريات ذاتية التغذية قد نشأت من كائنات غير ذاتية التغذية نتيجة لأكتسابها صفات تخليقية جديدة أثناء خطوات التطور المختلفة. ولكن مما يؤيد النظـرية الأولى أنه عند إحداث تغيرات وراثية بالبكتيريا وذلك بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية لانتاج طفرات بيوكيمائية فان الاتجاه الغـــذائى للطفرات يكون دائماً نحو زيادة التعقيد فى الاحتياجات الغذائية أو بمعنى آخر نحو غير ذاتية التغذية heterotrophism . وليس فى الاتجاه المغاير .

المراجع

Committee on Bacteriological Technique, Society of American Bacterio. log'sts «Manual of Microbiological Methods» Mc Graw-Hill Book Co. Inc. N. Y., 1957.

Koser, S.A. 1948 Growth factors for microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 2 : 121.

Krehl, W. A. and S. J. Liao 1951. Nutrition of bacteria and fungi. Ann. Rev, Micrabiol., 5 : 121.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. Mc Carty, 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.

Oginsky. E.L. and W.W. Umbreit, 1954. An Introduction to Bacterial Physiology. W.H. Freeman & Co. San. Fransico.

Pelczar, M.J. and J.D. Reid 1958. Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. N.Y., Toronto, London.

Stockes, J.L. 1952, Nutrition of Microoganisms. Ann. Rev. Microbiol. 6 : 29.

Snell, E.E. 1949. Nutrition of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 6 : 29.

Snell, E.E. 1951. Bacterial Nutrition - «Chemical Factors» in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds). Bacterial Physiology. Academic Press. Inc. N. Y.

Stanier, R.Y., M. Doudoroff, and E.A. Adelberg. 1971. General Microbiology. The Macmillan Press LTD. London and Tonbridge. 873 p.

الفصل الثالث

الظروف الفيزيائية التى تؤثر على نمو البكتيريا

Physical conditions affecting bacterial growth

ان دراسة الأسس الفسيولوجية للظروف البيئية للبكتيريا قد اسفرت عن تحديد العوامل الفيزيائية المختلفة التى تؤثر على نمو وتأقلم مختلف المجاميع البكتيرية فى الطبيعة . ومن الملاحظ أنه كلما قل عدد العوامل الفيزيائية التى تحدد نمو مجموع بكتيرى معين فى بيئة ما ، كلما سهل التعرف عن سبب تأقلم هذه البكتيريا فى هذه البيئة الطبيعية .

فالبكتيريات الأرضية terrestial bacteria تتأثر بالتقلبات المختلفة التى تحدث للظروف البيئية الفيزيائية كالحرارة ، والضغط ، والتهوية والحموضة والاشعاعات .

والكائنات الحية الدقيقة التى تتواجد فى الطبقات العليا من مياه البحار لا تختلف كثيرا عن البكتيريات الأرضية نظراً لتشابه ظروفها البيئية فيما عدا ارتفاع ملوحة مياه البحار . أما فيما يختص بالبكتيريات التى تعيش فى أعماق المحيطات فإنها تعيش تحت ظروف من الحرارة والضغط لا يتحملها أكثر البكتيريات الأرضية مقاومة للظروف غير الملائمة . والدراسات التى أجريت على بكتيريا الأعماق هذه والتى تم عزلها من رواسب أعماق المحيطات على أبعاد تصل إلى ١٠,٠٠٠ قدم فأكثر ، اسفرت عن امكان تنمية هذه الكائنات صناعيا فى ظروف تختلف عن الظروف السائدة فى بيئاتها الطبيعية ألا وهى الملوحة المرتفعة ، والضغط المائى المرتفع والحرارة المنخفضة . وبمقارنة بكتيريا الأعماق بالبكتيريات الأرضية أو تلك التى تعيش فى المناطق السطحية من مياه البحار أمكن التعرف على أجناس بكتيرية متشابهة تماما من الوجهة التقسيمية ، من ذلك يمكننا أن نفترض أن بروتوبلازم بكتيريا الأعماق هذه تعمل بطريقة أفضل تحت ظروف تختلف عن الظروف الملائمة لنمو الأنواع

البكتيرية الأرضية ، وأن الاختلاف فى هذه الظروف يتمثل فقط فى الضغط سواء كان ضغطا مائيا أو اسموزيا .

وسوف نتناول فيما يلى مناقشة بعض الظروف الفيزيائية التى تؤثر على نمو ونشاط البكتيريا بشىء من التفصيل . ويجب أن نعلم أنه من الصعب تحديدتأثير الظروف الفيزيائية وتمييزها عن تأثير الظروف الكيمائية حيث أن تأثيراتها قد تكون متداخلة بدرجة ملحوظة . فمثلا إذا كانت خلايا نوع بكتيرى معين تتأثر بالإشعاع الالكترونى فان هذا التأثير يتضمن تأثيرا فيزيائيا وكيمائيا معا . ومع ذلك فقد اتبعنا هنا النظام الذى يعتبر تأثيرات الحرارة والضغط والتهوية والاشعاع والحموضة ، تأثيرات فيزيائية .

١ — الحرارة : Temperature

من لمعروف أن خلايا البكتيريا لا يمكنها النمو على درجات حرارة تزيد أو تقل عن تلك السائدة فى بيئاتها الطبيعية وفيما يختص بتأثير الحرارة وتأقلم الخلايا البكتيرية نفترض أن الخلايا البكتيرية والبيئة النامية بها تكون ذات درجة حرارة متشابهة ، وأن الحرارة التى تنطلق فى الخلايا نتيجة للعمليات الايضية المختلفة بالخلية تفقد منها عن طريق الاشعاع الحرارى أو التحول أو بكلتا الطريقتين . وتتلخص دراسة تأثير الحرارة على البكتيريا فى معرفة قدرتها على النمو بقوة أو ببطء أو توقفها عن النمو على درجات الحرارة المختلفة (المرتفعة والمنخفضة) ، كما تشمل أيضا دراسة قدرة الخلايا على تحمل الدرجات القصوى والدنيا من الحرارة عندما تعرض لها لفترات قصيرة .

إن النطاق الحرارى الذى يسمح لنمو البكتيريات بصفة عامة يتراوح بين صفر إلى ٧٥°م . هذا ولكل نوع بكتيرى — أحيانا لكل سلالة — نطاق حرارى يقع فى حدود الدرجة الدنيا minimum ،والدرجة القصوى maximum وتقع بينهما درجة الحرارة المثالية لنموه . optimum ·

جدول ٨ : يوضح المجال الحرارى للبكتيريات المحبة للحرارة المرتفعة والمتوسطة والمنخفضة

المجموعة	درجة الحرارة °م		
	الدنيـــا	المثـــلى	القصـــوى
محبة للحرارة المرتفعة Thermophiles	٤٠ — ٤٥	٥٥ — ٧٥	٦٠ — ٨٠
محبة للحرارة المتوسطة Mesophiles	١٠ — ١٥	٣٠ — ٤٥	٣٥ — ٤٧
محبة للحرارة المنخفضة Psychrophile			
إجبارية Oblgate	(—٥) — (+٥)	١٥ — ١٨	١٩ — ٢٢
إختيارية Facultative	(—٥) — (+٥)	٢٥ — ٣٠	٣٠ — ٣٥

ودرجة الحرارة المثالية optimum هى درجة الحرارة التى تسمح بحدوث أسرع نمو خلال فترة حضانة قصيرة نسبيا تتراوح بين ١٢ — ٢٤ ساعة الاأنه يمكن الحصول على عدد كلى أكبر من الخلايا البكتيرية عندما يحتفظ بالمزرعة البكتيرية لفترة حضانة طويلة على درجة من الحرارة تقل عن الدرجة المثالية . ويجب أن نعلم أن الدرجة الحرارية المثلى للنمو ليس من الضرورى أن تكون هى نفس الدرجة المثلى للنشاط الخلوى الأنزيمى .

إن معدل التفاعلات الكيماوية عموما تتأثر بدرجة حرارة التفاعل فسرعة التفاعل تتضاعف بزيادة الحرارة بما قيمته ١٠ درجات مئوية . وقد وجد أن هذا صحيحا فيما يختص بالنمو البكتيرى بصفته يتم نتيجة لحدوث تفاعلات كيمائية

حيوية بداخل الخلايا فى حدود حرارية تتراوح بين ٢٠ — ٤٠°م حيث أن ارتفاع درجة الحرارة عن هذا الحد سوف يفسد البروتين الأنزيمى الخلوى . لذلك فان محصلة تأثير درجات الحرارة المتزايدة على خلايا البكتيريا هو زيادة سرعة التفاعلات الكيماوية بالخلية والتى من شأنها بناء البروتوبلازم وإنتاج الطاقة . كما أنها تشمل أيضا التفاعلات التى من شأنها افساد أو هرجلة البروتينات الخلوية .

فدرجة الحرارة تحدد جزئيا معدل النمو و كميته النهائية وقد تؤثر أيضا على العمليات الأيضية على الشكل المظهرى للخلايا . فكل نوع بكتيرى ينمو على درجة مثالية من الحرارة تقع فى مجال حرارى معين ، وعلى أساس المجال الحرارى الخاص والذى فى نطاقه تنمو البكتيريات ، أمكن تقسيم البكتيريا (جدول ٨) إلى ما يلى :

١ — بكتيريا محبة للحرارة المنخفضة psychrophiles وهى التى يجود نموها على درجات الحرارة المخفضة وهى تقسم إلى مجموعتين إحداهما إجبارية Obligate psychrophiles وهى التى تموت عند حرارة ٢٠°م أو أكثر قليلا والمجموعة الأخرى Facultative psychrophiles فإن درجتى الحرارة المثلى والقصوى لا تكونان فى الطاق الحرارى للمحبة للحرارة المخفضة .

٢ — بكتيريا محبة للحرارة المتوسطة mesophiles وتقع درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٣٠ — ٤٥°م .

٣ — بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة thermophiles وتقع درجة حرارتها المثالية بين درجتى ٥٥ — ٧٥° م وقد يمتد مجال بعض البكتيريات المحبة للحرارة المرتفعة إلى مجال البكتيريات الميزوفيلية وتعرف هذه الأنواع بالمحبة للحرارة اختياراً facultative thermophiles أو eurithermophiles والبعض الآخر من البكتيريا الثيرموفيلية يكون نموها على أشده على درجة ٦٠°م ولا تنمو على درجات الحرارة الواقعة فى مجال البكتيريات الميزوفيلية. وهذه الأنواع تسمى بالبكتيريا المحبة للحرارة حقيقة true thermophiles أو

stonothermophiles وأحيانا يطلق على الخلايا البكتيرية التى تقـاوم الحرارة وهى فى حالتها الخضرية اسم البكتيريات المتحملة للحرارة thermoduric بالرغم من عدم وجود حد فاصل (فى درجة الحرارة أو وقت التعرض لها) بين البكتيريات الحساسة والمتحملة للحرارة .

تأثير درجات الحرارة المنخفضة :

عند انخفاض درجة الحرارة فان النشاط الأيضى للخلايا يقل بسـرعة ملحوظة ويحدث ذلك عند الاقتراب من درجة حرارة التجمد . ويجب أن نعلم أن هذه التفاعلات لا توقف كلية على مثل هذه الحرارة – حيث يمكن لبعض الاعفان أن تنمو على اللحوم المحفوظة عند درجة – ١٠°م كما أمكن عـزل بعض البكتيريات التابعة لجنس *Bacillus* والتى يمكنها أن تحلـل اليوريا على درجات من الحرارة تتراوح بين – ٢ أو – ٤°م . وعموما فـان تعريض خلايا البكتيريا إلى درجات من الحرارة دون درجة التجمد لا يقتلها . كلية ، فبالرغم من سرعة موت غالبية الخلايا على هذه الدرجات إلاأن اعدادا متوسطة منها تظل حية . فقد وجد أن خلايا *E. coli* تتحمل الحرارة شديدة الانخفاض (درجة – ٢٠°م) بمعدل أفضل من تعرضها لدرجة (–٢°م) وحتى البكتيريات الرهيفة مثل أفراد رتبه *Spirochaetales* وبخاصة البكتيريا *Treponema pallidum* يمكنها أن تعيش لمدة طويلة على درجة حـرارة –٧٨°م دون أن تتأثر قدرتها الممرضة . ويبدو أنه عقب موت بعـض خـلايا المزرعة نتيجة للتعرض إلى درجة التجمد فان الخلايا المتبقية ينخفض معـدل موتها بدرجة ملحوظة . وقد وجد أن عددا من البكتيريا يمكنها أن تقـاوم درجات حرارة الغازات السائلة. فقد وجد أن البكتيريا *Streptococcus lactis* يمكنها أن تتحمل درجة حرارة الهواء السائل (–١٩١°م) لمدة ١١١ يومـا يمكن بعدها أن تواصل نموها بنفس السرعة وأن ٩٩٪ من خلايا الخميرة تقتل خلال ثلاثة أيام من حفظها على هذه الدرجة ولكن الجراثيم الاسكيه لخـلايا الخميرة وغيرها من الفطريات كانت أكثر مقاومة . فمن الناحية العملية يمكن

القول أن الأغذية المجمدة والثلج يمكنها أن تحمل ميكروبات ممرضة بالرغم من درجة حرارتها المنخفضة . فبكتيريا التيفود مثلا يمكن عزلها من الأغذية المجمدة التي أمكن حفظها لمدة عام على درجة -٢٠°م . ويمكن القول أن عدم تأثر الخلايا البكتيرية الملوثة للأغذية المجمدة يرجع جزئيا إلى انفصال بلورات الثلج والتي تكون عادة خالية من خلايا البكتيريات تاركة هذه الخلايا مركزة في الجزء السائل من الغذاء والذي لا يتجمد عادة على درجات التجمد العادية. هذا وتعرض الخلايا البكتيرية إلى التجميد والاسالة المتكررة يحدث تأثيرا ضارا بالخلايا البكتيرية عنه في حالة التجميد البسيط .

ويجب أن نعلم أنه بدرجات الحرارة المنخفضة يقل التأثير الضار على البروتين الخلوي إذا لم تصل درجة الحرارة إلى ما دون التجميد بدرجات كبيرة . وإذ حدث التجمد بسرعة فائقة ليتكون نتيجتها بلورات ثلجية صغيرة جداً فان ذلك يضمن الاحتفاظ بحيوية الخلايا . وقد أمكن إيجاد طريقة لحفظ الخلايا البكتيرية لمدد طويلة جداً تصل إلى ٢٠ سنة أو أكثر ، وذلك بتجميد وتجفيف المزارع بسرعة ، وتعرف المزارع المحفوظة بهذه الطريقة باسم lyophilized .

تأثير درجات الحرارة المرتفعة :

تزداد سرعة العمليات الأيضية الخلوية بأزدياد درجة الحرارة إلى حد محدود حيث أن الزيادة في النشاط الأيضي على الدرجات المرتفعة من الحرارة يكون مصحوباً بزيادة في فساد البروتين الأنزيمي أيضاً . إذن فحدوث النمو على مثل هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة يعني حدوث توازن بين العمليات الحيوية المختلفة بمعنى أن العمليات التي من شأنها تعويض البروتين بالخلية تفوق سرعة فساد البروتين نفسه نتيجة للحرارة المرتفعة .

ومقاومة الخلايا البكتيرية لدرجات الحرارة المرتفعة (أعلى من الحد الأقصى للنمو) تعني أن الفساد الذي قد يحدث للبروتين الخلوي لم يشمل البروتين الأنزيمي الخاص بعملية التعويض أو الأصلاح repair process بحيث أنه لو أعيدت الخلايا إلى الدرجات الملائمة للنمو يمكنها أن تستأنف نشاطها

وقد أظهرت الأبحاث أن درجة الحرارة القصوى لأى نوع بكتيرى تقع مباشرة تحت درجة الحرارة الدنيا لتثبيط البروتين الأنزيمى الخلوى . أو بمعنى آخر ان أقل درجة من الحرارة يمكنها أن تثبط الأنزيمات تكون أعلى قليلا من درجة الحرارة القصوى للنمو . وبما أن لكل نوع بكتيرى درجة حرارة قصوى خاصة به لذا فان درجة الحرارة التى تتثبط عندها الانزيمات البكتيرية تختلف تبعاً للنوع البكتيرى . فقد وجد أن انزيمات البكتيريا *Bacillus mycoides* يقل نشاطها على درجة حرارة ٤١°م فى حين أن خلاياها تنمو على درجة ٤٠°م وليس على درجة ٤١°م . وفى حالة *Bacillus subtilis* تثبط انزيماتها عندما تصل درجة الحرارة إلى ٥٥°م فى حين أن الخلايا يمكنها أن تستمر فى نموها على درجة ٤٥°م وتتوقف عن النمو فى الدرجات الأعلى من الحرارة . ولا يوجد من الأدلة ما يفيد ما إذا كانت كل الانزيمات الخلوية تتأثر أو تتثبط بنفس الدرجة المرتفعة من الحرارة .

وقد وجد أن انزيمات البكتيريا المحبة للحرارة وخاصة أنزيم cytochrome oxidase وأنزيم malic dehydrogenase وأنزيم hexokinases تكون مقاومة للتثبط الحرارى حتى بعد عزلها من الخلايا فى صور نقية . ولا يمكن أن يقال أن مثل هذه الانزيمات تكون محمية باتحادها مع بعض البروتينات الغروية بالخلية والمقاومة للحرارة بل يعزى مقاومة هذه الانزيمات للتثبط الحرارى إلى تركيب الانزيم فى حد ذاته فان هذا التركيب يساعد على مقاومتها للحرارة ، علاوة على أن هذه الانزيمات تعمل فى ظروف الحرارة المرتفعة بدرجة أسرع منها فى الدرجات المتوسطة من الحرارة . والاختلاف فى الطاقات الحرارية للبكتيريا الميزوفيلية قد يرجع بالمثل إلى الاختلافات فى طبيعة البروتين الانزيمى الذى يختلف من نوع إلى آخر . فقد عزلت هذه الانزيمات من خلايا البكتيريات المحبة للحرارة ووجد أن نشاطها يقل بمعدل ٥٠٪ عندما تعرض لدرجة ٦٥°م لمدة نصف ساعة على حين أن نفس الانزيمات المعزولة من البكتيريات الميزوفيلية يزول نشاطها كلية بعد تعريضها لمدة ٥ دقائق لنفس رجة الحرارة .

ومن الملاحظ أنه إذا أوقف نشاط انزيم معين ، مسئول عن تكوين مادة ايضية ضرورية للنمو ، نتيجة لأرتفاع درجة حرارة البيئة ، فان الكائـن البكتيرى يتوقف نموه كلية ما لم تضاف إلى بيئته الغذائية تلك المادة الأيضية التى امتنع تكونها بالرغم من وجود النظام الانزيمى الخاص بتجهيزها بالخلية والذى يعمل على الدرجات المنخفضة من الحرارة . ولزيادة فى الإيضـاح نسوق الأمثلة التالية : أولا عند تنمية البكتيريا *Lactobacillus arabinosus* على درجة حرارة ٢٦°م فى وجود الهواء الجوى فأنها تنمو بدون الحاجة إلى اضافة الأحماض الأمينية الآتية : التايروسين ، والفينيل الانين وحمـض الاسبارتيك ، ولكن إذا نميت هذه البكتيريا على درجة حرارة ٣٧°م فانه يلزم اضافة التايروسين والفينيل الانين إلى بيئة نموها . أما إذا نميت على درجة ٣٩°م فأنه يلزم اضافة حمض الاسبارتيك علاوة على الحمضين الامينين المذكورين.

ومثال آخر لتأييد هذه النظرية أن أحد السلالات الطفرية للبكتيريا *E. coli* يتطلب اضافة الفيتامين Pantothenic acid فقط عندما تحضن مزارعها على درجة حرارة أعلى من ٣٠°م حيث وجد أن الانزيم الذى يمكنه أن يخلق هذا الفيتامين يفقد نشاطه بدرجة واضحة فى مثل هذه الحرارة ، وعلى النقيض فان خلايا *E. coli* الأصلية ، التى اشتقت منها السلالة الطفرية السابقة الذكر لا تتطلب اضافة هذا الفيتامين على أى درجة من الحرارة بمعنى أن انزيمها المسئول عن تخليق هذا الفيتامين لا يثبط نشاطه بالحرارة المرتفعة .

والتفسير الأقرب إلى الحقيقة لتأثر الاحتياجات الغذائية بدرجة حرارة التحضين هو أن النظم الانزيمية المسئولة عن تجهيز بعض المـواد الضرورية للنمو يثبط نشاطها بالدرجات المرتفعة من الحرارة أثناء فـترة الحضانة .

وعند درجات الحرارة فوق الحد الأقصى للنمو لا يمكن لعمليـات التعويض أو الاصلاح بداخل الخلية أن تعوض كل البروتينات التى تفسد ،

فيقل بذلك عدد الخلايا الحية . وقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لأرتفاع درجة الحرارة يتم طبقاً لنظام لوغاريتمى بمعنى أن معدل الموت يزداد باضطراد بأرتفاع درجة الحرارة. ومن المقطوع به أن الفعل المميت للحرارة يزداد بدرجة واضحة فى وجود الماء حيث أن البروتينات عموماً تتأثر وتفسد بدرجة أسرع فى الحرارة الرطبة أكثر منها فى الحرارة الجافة .

المقاومة الحرارية للجراثيم البكتيرية والبكتيريات الثرموفيلية

من الصعب تفهم الطريقة التى تقاوم بها الجراثيم البكتيرية درجات الحرارة المرتفعة فالجراثيم لا تكون معزولة عن فعل الحرارة حيث أن أغلفة الجرثومة التى لا يزيد سمكها عن ٠٢,٠ من الميكرون لا تكون عاملا عازلا لها عن حرارة البيئة . إلا أن الانزيمات الجرثومية عادة يفسد بروتينها فى درجات الحرارة الأقل من ١٠٠°م فى حين أن بعض البروتينات مثل الالبيومين تتجمع بسرعة فى درجة حرارة ٧٠°م . كما وجد أن البروتينات تكون مقاومة للتجمع الحرارى عندما تكون فى صورة جافة ، فالالبيومين المجفف يمكن أن يسخن إلى درجة ١٧٠°م دون أن يفقد قدرته على الذوبان فى الماء البارد . هذا ووجد أن الانزيمات عندما تكون فى صورة جافة تظهر نفس المقاومة الحرارية ، لذلك فقد اقترح البعض أن درجات الجفاف العالية التى تتميز بها الجراثيم البكتيرية تجعلها أكثر مقاومة للحرارة المرتفعة . وهذا الاقتراح بالرغم من أنه معقول الا أنه لم يؤيد بعد بدليل قاطع . فعند مقارنة محتويات الجراثيم بمحتويات الخلايا الخضرية بعد توحيد المحتويات المائية فى كل منها لم يلاحظ اختلاف ما فى درجة مقاومتها للحرارة المرتفعة . ويقترح البعض أنما تحتويه الجراثيم البكتيرية من الماء ، وهو عادة قليل جداً ، يكون مرتبطا بالبروتينات بطريقة غير صالحة للتفاعلات الكيماوية تماما كالماء البلورى فى بلورات المواد الكيماوية. هذا والمحتويات الانزيمية القليلة بالجراثيم البكتيرية تكون أكثر قدرة على مقاومة الحرارة المرتفعة

فبمقارنة الانزيم الانين راسماز alanine racemase المعزول من جراثيم البكتيريا *Bac. terminalis* ومن خلاياها الخضرية وجد أن الانزيمات المعزولة من الجراثيم تتحمل التعرض لمدة ساعتين لدرجة ٨٠° م فى حين أن نفس الانزيم المعزول من الخلايا الخضرية تفسد بعد تعرضها لمدة ١٥ دقيقة إلى نفس درجة الحرارة من ذلك يمكن القول أن الانزيمات الموجودة بخلايا البكتيريا الميزوفيلية وكذلك الجراثيم يكون فى وسعها مقاومة الحرارة المرتفعة بدرجة أكبر من غيرها .

وهناك اقتراح آخر هو أن مقاومة الجراثيم أو الخلايا الثرموفيلية للحرارة المرتفعة يحدث نتيجة لوقاية البروتين الجرثومى بواسطة البروتينات أو الدهون الغروية . فمثلا يلزم درجات أعلى من الحرارة لقتل بكتيريا حمض اللاكتيك العالقة فى القشدة عنها لقتل البكتيريا عندما تكون عالقة فى اللبن وهذه تكون أعلى من التى تلزم لقتلها عندما تكون عالقة فى ماء الببتون . وتزداد مقاومة جراثيم البكتيريا *Cl.botulinum* إذا نميت فى بيئة تحتوى على أحماض دهنية ذات سلاسل كربونية طويلة ويرجع ذلك إلى زيادة محتويات الجراثيم من الدهون تحت هذه الظروف .

٢ - **الضغط** : Pressure

معظم البكتيريات المعروفة تنمو وتقوم بكل وظائفها تحت الظروف العادية من الضغط (١٤,٧ رطل على البوصة المربعة) كما أن الاختلافات الطفيفة فى الضغط الجوى العادى لا تؤثر عليها كثيراً . وبالرغم من أنه ليس للضغط تأثير فعلى على البكتيريات الأرضية إلا أن دراسة تأثيره على البكتيريا تبين لنا كيفية نمو وتكاثر بكتيريا الأعماق التى تعيش فى البحار ، أو المحيطات أو فى آبار الزيوت تحت ضغوط مائية hydrostatic مرتفعة :

ولمعرفة تأثير الضغط يلزم أن نعود لذكر التأثير المزدوج للحرارة المرتفعة على الوظائف الحاوية والذى يشمل : زيادة معدل التفاعلات الايضية ، وكذلك

زيادة معدل تثبيط البروتين الانزيمى . من ذلك نرى أن نمو الخلية البكتيرية أو حتى نشاط الانزيمات المعزولة منها على درجة حرارة معينة ، هو عبارة عن محصلة تأثيرين للحرارة أحدهما يزيد من معدل النمو أو النشاط والآخر يقلل منهما ، وارتفاع الضغط المائى فى مثل هذه الدرجة من الحرارة قد يحدث واحدا من تأثيرات ثلاث :

١ — قد تحدث هرجلة للبروتينات البكتيرية نتيجة لارتفاع الضغط وحده وقد يحدث ذلك فى درجات الحرارة العادية إذا ارتفع معدل الضغط بدرجة كبيرة تصل إلى ١٠,٠٠٠ ضغط جوى (الضغط الجوى = ١٤,٧ رطل/البوصة٢) إلا أنه فى درجات من الضغط الأقل كثيراً من القيمة المذكورة ١/,, أو أقل) لا تحدث هرجلة ملحوظة للبروتين البكتيرى .

٢ — ان أرتفاع الضغط قد يعكس الفعل الضار لدرجات الحرارة الزائدة عن الدرجة المثالية لنظام انزيمى معين سواء كان بخلايا بكتيرية أو فى صورة انزيمات معزولة منها . فمن المعروف أن زيادة معدل التفاعلات — الانزيمية وكذلك هرجلة البروتينات نتيجة للحرارة المرتفعة تكون مصحوبة بزيادة فى الحجم الجزيئى (حجم الجزيئات الانزيمية) أو بمعنى آخر يكون مصحوبا بزيادة حجم النشاط إلا أن وجود الضغط المائى المرتفع فى هذه الظروف يمنع حدوث هذه الزيادة فى الحجم الجزيئى ، فلا يحدث نتيجة لذلك هرجلة للبروتين الانزيمى ولكن تستمر الزيادة فى معدل التفاعلات الانزيمية فى الاضطراد نتيجة لارتفاع درجة الحرارة . من ذلك نرى أن النمو البكتيرى لا يتوقف على درجات الحرارة الأعلى من الدرجة المثالية فى وجود الضغط المائى المرتفع أو بمعنى آخر يمكن للضغط المائى المرتفع أن يقى الخلايا من الفعل الضار لدرجات الحرارة الأعلى من الدرجة المثالية .

٣ — ان ارتفاع الضغط المائى عندما تكون درجات الحرارة أقل من الدرجة المثالية يؤدى إلى توقف النمو كلية حيث أن معدل النشاط الانزيمى

عندئذ يكون هو العامل الاساسى المحدد للنمو ، أو بمعنى آخر فانه رغما عن عدم حدوث أى هرجلة للبروتينات الانزيمية نتيجة لزيادة الضغط إلا أن على درجات الحرارة الأقل من الدرجة المثالية ينخفض معدل النشاط الانزيمى بدرجة كبيرة عنها فى الأحوال العادية من الضغط .

ويبين الجدول التالى كيفية تأثير الضغط المائى المرتفع والحرارة على نمو بعض البكتيريات .

جدول رقم ٩ : الحرارة والضغط المائى على النمو البكتيرى

الكائن البكتيرى	٣٠٠ ضغط جوى			٤٠٠ ضغط جوى			٥٠٠ ضغط جوى			٦٠٠ ضغط جوى		
	٢٠°م	٣٠°م	٤٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٤٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٤٠°م	٢٠°م	٣٠°م	٤٠°م
بكتيريات أرضية :												
Clostridium sporogene	—	+٤	+٤	—	+٢	+٣	—	—	—	—	—	—
Bacillus subtilis	—	+٣	+٤	—	+٢	+٤	—	—	+٣	—	—	+٢
Ps. fluorescence	+٢	+٣	+٤	—	+٢	+٤	—	—	+٣	—	—	—
بكتيريات بحرية :												
Achromobacter thalassui	—	+٤	+٢	—	—	+٣	—	—	—	—	—	—
Bac. submarinus	+٢	+٤	+٤	+١	+٤	+٤	—	+٤	+٤	—	+٤	+٤
Bs. xanthocras	+٤	+٤	—	+٤	+٣	+١	+٢	+٢	+٢	+١	+١	—

كل المزارع أعطت نموا غزيرا (٤+) فى درجات الحرارة المختلفة الثلاث على الضغط الجوى العادى فيما عدا *Ps. xanthocrus* والتى لم تنم فى هذا الضغط على درجة ٤٠ م) .

(Zobell, C.E. & F.H. Johnson. 1949. J. Bacterial. 57 : 179).

ويلاحظ من الجدول السابق أن البكتيريا البحرية التى تعيش فى أعماق غائرة تظهر تحملا للضغوط المرتفعة أكثر من غيرها . وفى أعلى درجات الضغط المستعملة يتوقف النمو نتيجة لما ذكر سابقا تحت التأثيرات رقم (١ ، ٢). ولكن على درجات الزرع المنخفضة فان الضغط المرتفع يوقف النمو بالطريقة السابق شرحها تحت التأثير رقم (٣) . وفى درجة حرارة ٤٠°م وهى أقصى درجة من الحرارة استعملت فى التجربة السابقة فان النمو قد حدث حتى عند أعلى الدرجات من الضغط المائى . وفى حالة *Ps. xanthocrus* البحرية فان النمو لم يحدث اطلاقا الا عند ارتفاع الضغط .

والضغط المرتفع قد يحدث تأثيره على البكتيريا بإيقافه لنموها

وأحيانا لا يتوقف النمو البكتيرى نتيجة للضغط المرتفع ولكن هذه الظروف تؤثر على عملية الأنقسام الخلوى حيث يظهر النمو فيما بعد بطريقة غير عادية . فكثير من البكتيريات البحرية ينمو بشكل عصوى قصير تحت الدرجات المرتفعة من الضغط المائى (٣٤٠ — ٥٤٥ ضغط جوى) ، ولكنها تظهر بشكل خيوط طويلة تختلف عن مظهرها العصوى القصير المعتاد إذا ما عرضت للضغط الجوى العادى ، ولكن عندما يعاد النمو الخيطى إلى الظروف العادية من الضغط المرتفع فان الخيوط تتجزأ بسرعة لتعطى المظهر العصوى القصير مرة أخرى . هذا وقد يحدث العكس فى حالة بعض البكتيريات الأرضية التى عندما تعرض إلى ضغط مرتفع يختل إنقسامها وتظهر بشكل خيوط طويلة . وتكوين النمو الخيطى تحت تأثير أختلاف الضغط عن المعتاد قد يرجع إلى التأثير الذى يحدث للتوازن الموجود بين الحالة السائلة والحالة الجيلاتينية ($\text{gel} \rightleftharpoons \text{sol}$) فى البروتوبلازم . وعند اختلال هذا التوازن يمتنع زيادة لزوجة البروتوبلازم بالدرجة اللازمة لتكوين الأغشية السيتوبلازمية أثناء عملية الأنقسام ، وهذا التفسير لازال تفسيرا نظريا لم يؤيد بعد بأدلة تجريبية عملية ، إلا أنه يتمشى مع النظريات المعروفة لتأثير الضغط

على توازن المحتويات السائلة والجيلاتينية بالخلية sol-gel equilibria • والضغط المائى المرتفع قد يمنع النمو كلية فى الدرجات المتوسطة من الحرارة نتيجة لإحداثه اضطرابات فى طريقة تجمع الانزيمات فى أماكنها الخاصة بداخل الخلية .

الضغط الأسموزى :

يحدث الضغط الاسموزى المرتفع تأثيرا من نوع آخر على خلايا البكتيريا. فمعظم البكتيريات فيما عدا البكتيريات البحرية تنمو جيدا على تركيزات منخفضة من ملح الطعام أى عند ضغوط اسموزية متوسطة . وعمليات تحرك المحاليل خارج الخلية ودخول الماء إليها تبدو محكومة بالغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا وأنه هو الذى يهيىء ضغطا اسموزيا داخل الخلية أكثر ارتفاعا منه خارجها . أما إذا عكس الوضع وتواجدت الخلايا فى بيئة تحتوى على تركيز مرتفع من المواد الذائبة (٥٠٪ أو أكثر) فان نمو هذه الخلايا يتوقف بدرجة ملحوظة . والتركيز الملحى المعوق للنمو يختلف بأختلاف نوع الملح المستعمل (ص٢كل أو ص٢ ك ا٣) وكذلك على الكائن البكتيرى المختبر حيث تختلف البكتيريات فى قدرة تحملها للملوحة الزائدة من الأملاح المختلفة . فمثلا البكتيريا البحرية تنمو جيداً فى بيئات تحتوى على تركيز ٢٪ ملح طعام فى حين أن هذا التركيز قد يمنع نمو البكتيريا *E. coli* كلية .

وفى البيئات ذات الضغط الاسموزى المرتفع يتوقف النمو نتيجة لحدوث تجفيف dehydration لبروتوبلازم الخلايا نتيجة لخروج الماء منها بدرجة كبيرة حيث ينكمش البروتوبلازم بداخل الخلية مبتعدا عن الجدار الخلوى ، ومثل هذه الخلايا المبلزمة قد تعود مرة أخرى إلى حالتها الطبيعية إذا ما اعيدت إلى بيئة ذات ضغط اسموزى عادى .

والبكتيريات المحبة للملوحة halophiles تتميز بقدرتها على النمو فى

بيئات تحتوى على تركيزات من ملح الطعام تمنع نمو البكتيريات العادية nonhalophilic والبكتيريات المحبة للملوحة هذه تتمثل فى اعداد قليلة من الأنواع البكتيرية مثل أنواع *Habobacterium* و *Pseudomonas* و *Bacillus* ويمكن عزلها من الأسماك المملحة وغيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام ، ويمكن تنميتها فى بيئات صناعية تحتوى على تركيز يتراوح بين ١٠ — ١٥٪ من ص كل ، والبعض من هذه البكتيريا قد يكون متحمــلا للتركيزات المرتفعة من الأملاح وليس متطلباً لوجودها كشرط أساسى للنمو. ونمو مثل هذه البكتيريات فى تركيزات مرتفعة من الأملاح يؤدى إلى ظهور نمو غير منتظم involution forms يشبه ذلك الذى يحدث فى وجـود بعض المضادات الحيوية ، ويلاحظ أن مثل هذه النموات غير الطبيعية لا يمكنها استمرار الحياة إذا زاد تعرضها للملوحة المرتفعة . إلا أنه لو أعيدت الخلايا إلى بيئاتها العادية فأنها تتخذ شكلها المعتاد وتواصل نموها مرة أخرى .

من المعروف أن القدرة على النمو فى وجود تركيزات مرتفعة من ملــح الطعام ١٠ — ١٥٪ لا تشابه القدرة على النمو فى تركيزات مرتفعة من سكـر القصب بدليل ان البكتيريات المحبة للملوحة لا يمكنها أن تواصل نموها فى بيئات ذات تركيز مرتفع من سكر القصب والعكس صحيح — وهذا يبين أيضــاً إختلاف ميكانيكية مقاومة الخلايا لكل من التأثرين .

ولتفسير مقاومة الخلايا المحبة للملوحة للتركيزات المرتفعة من ملح الطعام نسوق الافتراضات التالية : (أ) أن البروتين الانزيمى فى الخلايا البكتيرية المحبة للملوحة يكون مقاوما للتثبيط بالتركيزات المرتفعة من الأملاح ، وقـد اثبتت التجارب أن الانزيمات المعزولة من البكتيريات المحبة للملوحة تكــون حساسة للتركيزات المرتفعة من الأملاح تماما كانزيمات البكتيريات العادية الأمر الذى يوضح عدم صحة هذا الأفتراض .

(ب) أن الخلايا المحبة للملوحة تكون محاطة بمادة دهنية تمنع دخول الأمـلاح

اليها ، وبالرغم من وجود الأدلة على أن محتويات الخلايا المحبة للملوحة من الأملاح تكون عادة أقل من محتويات البيئة ، إلا أنه لا توجد أدلة على وجود الطبقة الدهنية أو أى طبقة أخرى غير منفذة للأملاح محيطة بالخلايا المحبة للملوحة . (حـ) أن درجة انتشار الأملاح داخل الخلايا تتوقف على كمية الطاقة التى تستهلك فى منطقة الغشاء السيتوبلازمى ويبدو أن هذا الافتراض هو الأقرب إلى الصحة والصواب . فقد وجد أنه لو توقفت العمليات التى من شأنها توليد الطاقة بداخل الخلية فان خلايا البكتيريا المحبة للملوحة تتوقف عن النمو نتيجة لزيادة تركيز الأملاح فى بيئة نموها ، مما يدل على أن الطاقة المولدة بداخل الخلايا تعمل إلى حد ما على منع دخول الأملاح إلى الخلايا . وكما سبق أن بينا أن هذا لا يفسر ما إذا كان هذا هو الذى يحدث أيضا فى حالة الكائنات الأخرى المتحملة للضغط الاسموزى المرتفع كالخميرة مثلا والتى يمكنها أن تنمو فى بيئات ذات تركيز من سكر القصب يقدر بحوالى ٧٠ ضغط جوى إلا أن نموها يتوقف كلية عند ما يصل تركيز ملح الطعام فى بيئتها إلى ٣٠٪ ، كما أن ذلك لا يفسر أيضاً عجز البكتيريات المحبة للملوحة عن النمو فى بيئات خالية تماما من ملح الطعام .

٣ ـ الأكسجين :

أن توفر الهواء يعتبر من أهم الظروف التى تؤثر على نمو وتكاثر وتأقلم الكائنات الحية الدقيقة . ومن أهم الغازات المكونة للهواء الجوى والتى لهاتأثير على نمو الكائنات هى الأكسجين وثانى أكسيد الكربون ، ولكى نتفهم أهمية هذه العوامل يجب التعرف على طبيعة عمليات الأكسدة بوجه عام .

من المعروف أن كل النباتات والحيوانات الراقية تتطلب مصدرا مستمرا من الأكسجين لكى تواصل حياتها ، الا أن بعض الحشرات يمكنها أن تستغنى عن الأكسجين لفترات قصيرة من دورة حياتها ، كما أن بعض

الحيوانات مثل الديدان الطفيلية يمكنها أيضا أن تنمو وتتكاثر فى غياب الأكسجين ولكن الغالبية العظمى من الكائنات الراقية تعتمد عليه اعتمادا كليا.

وفيما يختص بالكائنات الحية الدقيقة وبخاصة البكتيريا ، فأنها قد تحتاج أو لا تحتاج إلى الأكسجين لمواصلة حياتها ونموها ، ويمكن تمييز أربعة مجاميع من هذه الكائنات تبعا لمتطلباتها من الأكسجين :

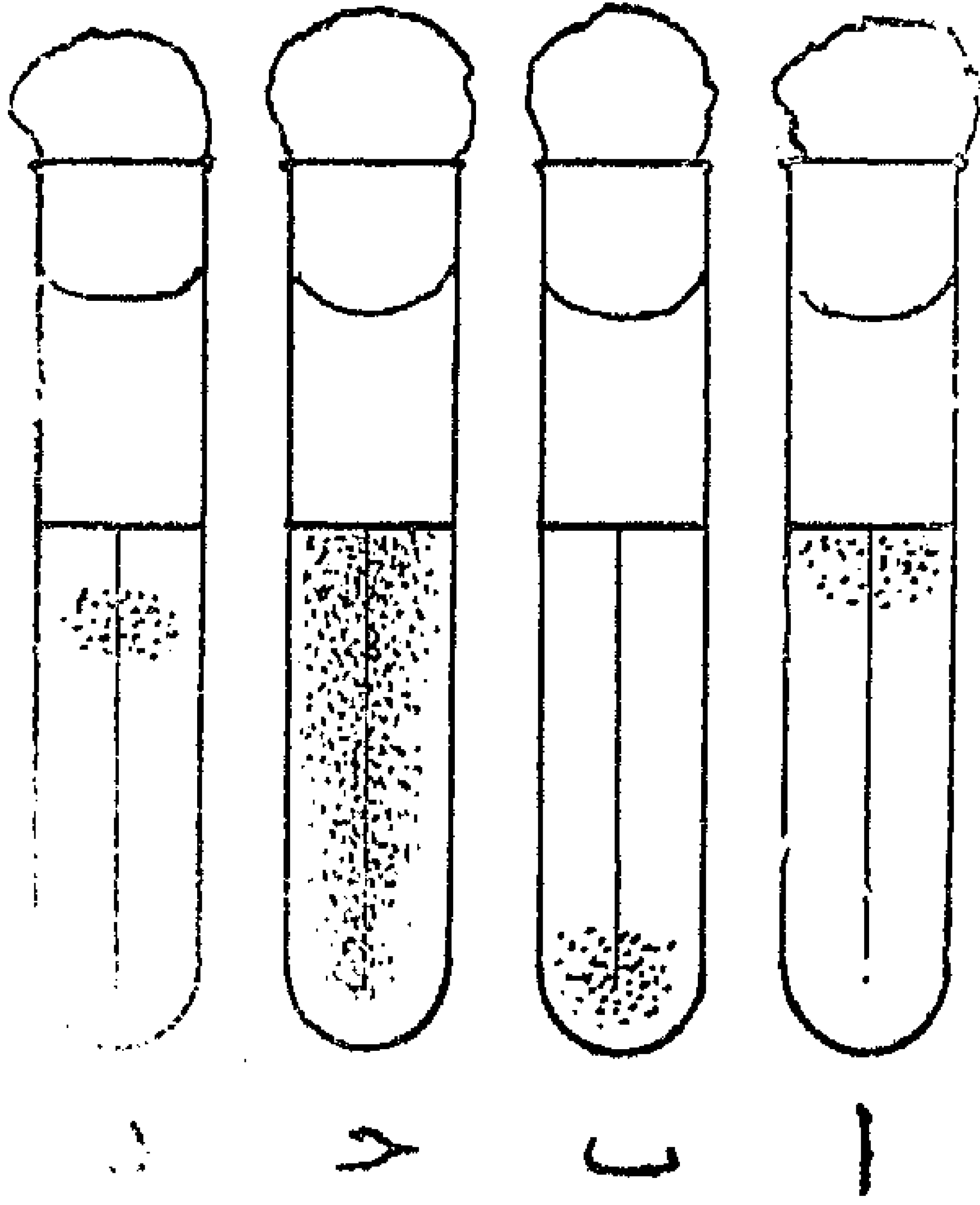
١ – بكتيريات هوائية اجبارية strict aerobes وهى التى تنمو وتتكاثر فقط فى وجود الأكسجين ويمتنع نموها فى غيابه مثل البكتيريا *Bacillus thermoliquifaciens* و *Pseudomonas delphini* والأنواع غير الممرضة من البكتيريا Micrococci و Mycobacteria .

٢ – بكتيريات غير هوائية اجبارا Strict anaerobes وهى تنمو وتتكاثر فقط فى غياب الأكسجين وأنها تقتل إذا ما سمح للهواء بالتطرق إلى مزارعها. وتشمل هذه المجموعة البكتيريات المتجرثمة التابعة لجنس *Clostridium* مثل *Cl. acetobutylicum* وبعض البكتيريات العصوية غير المتجرثمة التابعة لجنس *Bacteriodes* والتى لازال يعرف عنها القليل . ولما كانت بعض البكتيريات التابعة لجنس *Clostridium* يمكنها أن تتحمل الضغوط المنخفضة من الأكسجين لا يزيد عن ٢٠ ملليجرام / لتر لذلك فلا يمكن اعتبار هذه البكتيريات غير هوائية بالمعنى الصحيح ولكنها تعرف بالبكتيريات المتحملة لظروف التهوية aerotolerant

٣ – والمجموعة الثالثة تتمثل فى بكتيريا حمض اللاكتيك والتى تمثل مجموعة وسطية حيث أنها تنمو بدرجة أفضل فى وجود كميات ضئيلة من الأكسجين ، وتعرف أفراد هذه المجموعة بأنها Microaerophilic مثل البكتيريا *Lactobacillus plantarum* وبعض أنواع جنس *Corynebacterium*

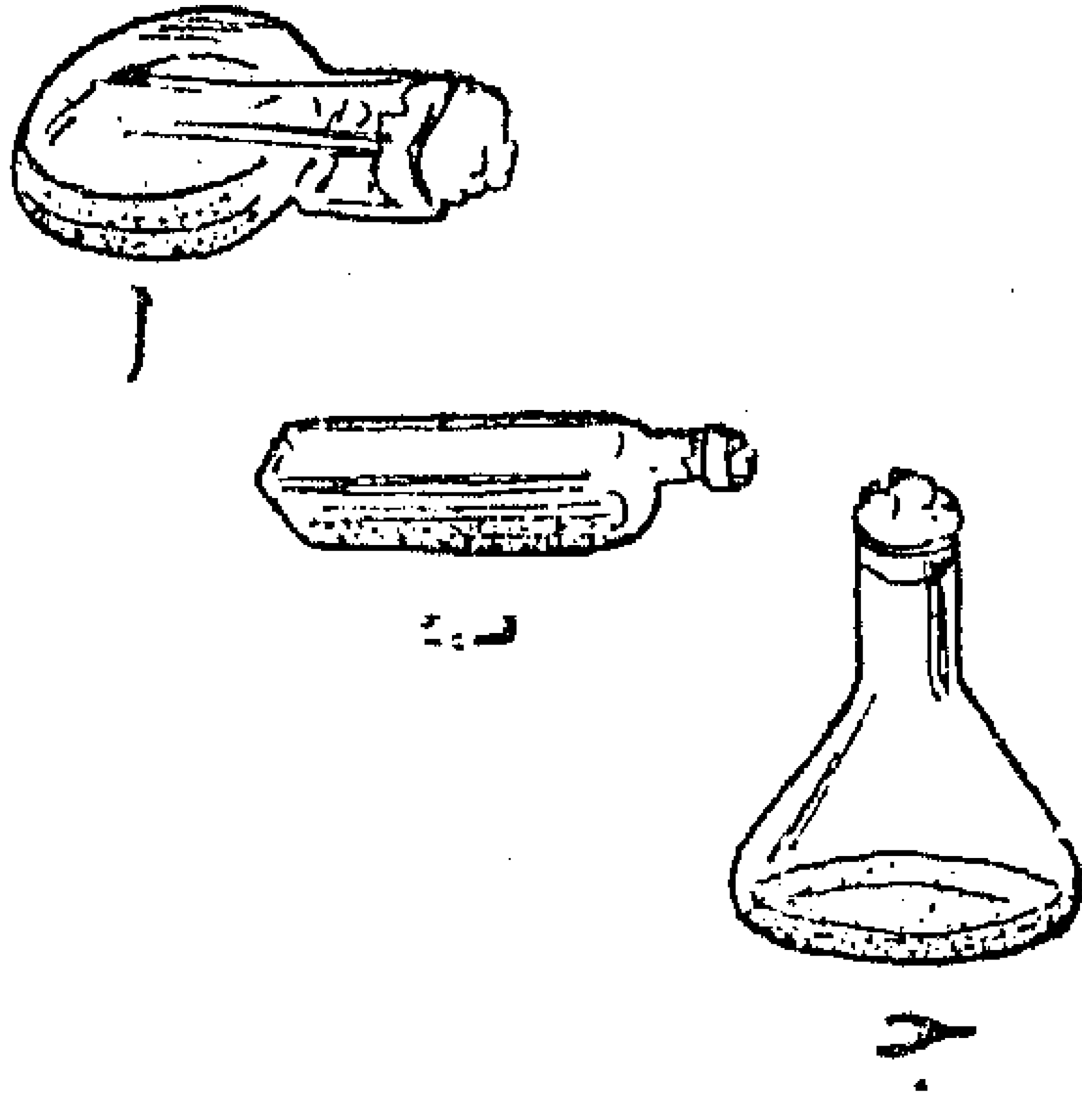
٤- بكتيريات اختيارية facultative

وهى التى تنمو وتتكاثر تحت كلا الظروف الهوائية وغير الهوائية، مثل البكتيريا *Erwinia carotovora* والبكتيريا *Strptococcus cremoris* ويبين (شكل ٦٧) رسما تخطيطيا لطريقة نمو أفراد كل مجموعة من المجاميع الأربعة على بيئة الآجار العميق



شكل ٦٧ : رسم تخطيطى لنمو البكتيريات فى أنابيب الآجار العميق مبينا الاختلافات فى احتياجاتها من الأكسجين ا - نمو هوائى، ب- نمو غير هوائى حـ - نمو غير هوائى اختيارا د - نمو يتطلب ضغط منخفض من الأكسجين Microaerophilic .

ولتنمية البكتيريات الهوائية يكفى ترك الأنابيب أو الدوارق الصغيرة المحتوية عليها تحت الظروف العادية لتوفير احتياجاتها من الأكسجين ، أما إذا اريد الحصول على كميات أوفر من النمو فتزداد درجة تعريض مزارع هذه البكتيريات الهوائية إلى الأكسجين الجوى ، ويجرى ذلك عادة بأستعمال طبقة رقيقة من البيئة الغذائية تعبأ فى أوعية مناسبة مثل :



شكل ٦٨ : بعض الأوعية المستعملة فى تنمية البكتيريات الهوائية والتى توفر زيادة تعريض سطح البيئة للاكسجين الجوى أ - دورق كول ب - زجاجة روكسى ، حـ - دورق فيرنباك .

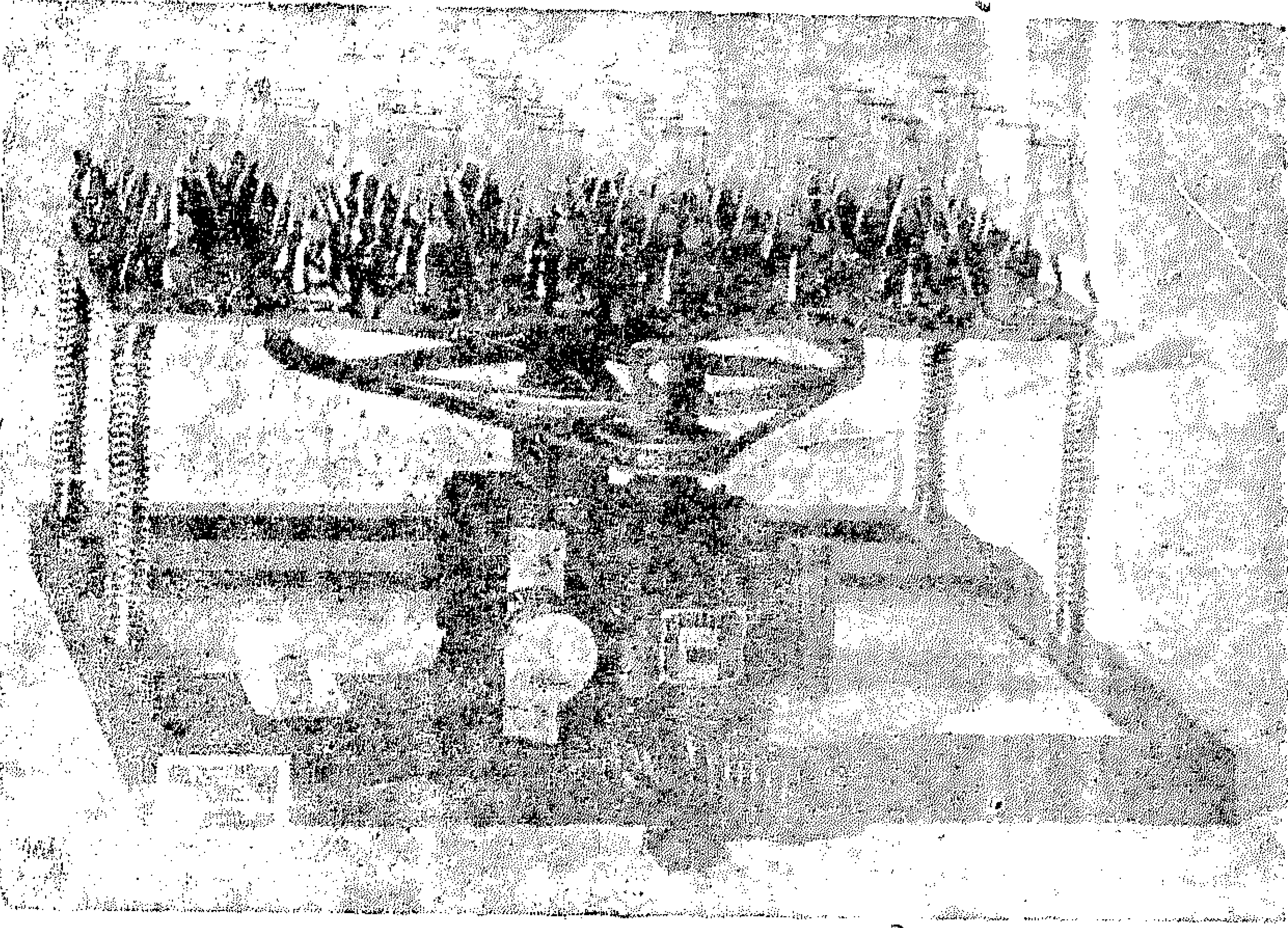
(أ) دوراق كول Kolle flasks

(ب) زجاجات روكسى Roux bottles

(حـ) دوارق فيرنباك Fernabch flasks

(شكل ٦٨)

ويمكن أيضا زيادة تهوية البيئة بتنمية البكتيريات الهوائية فى بيئات غذائية

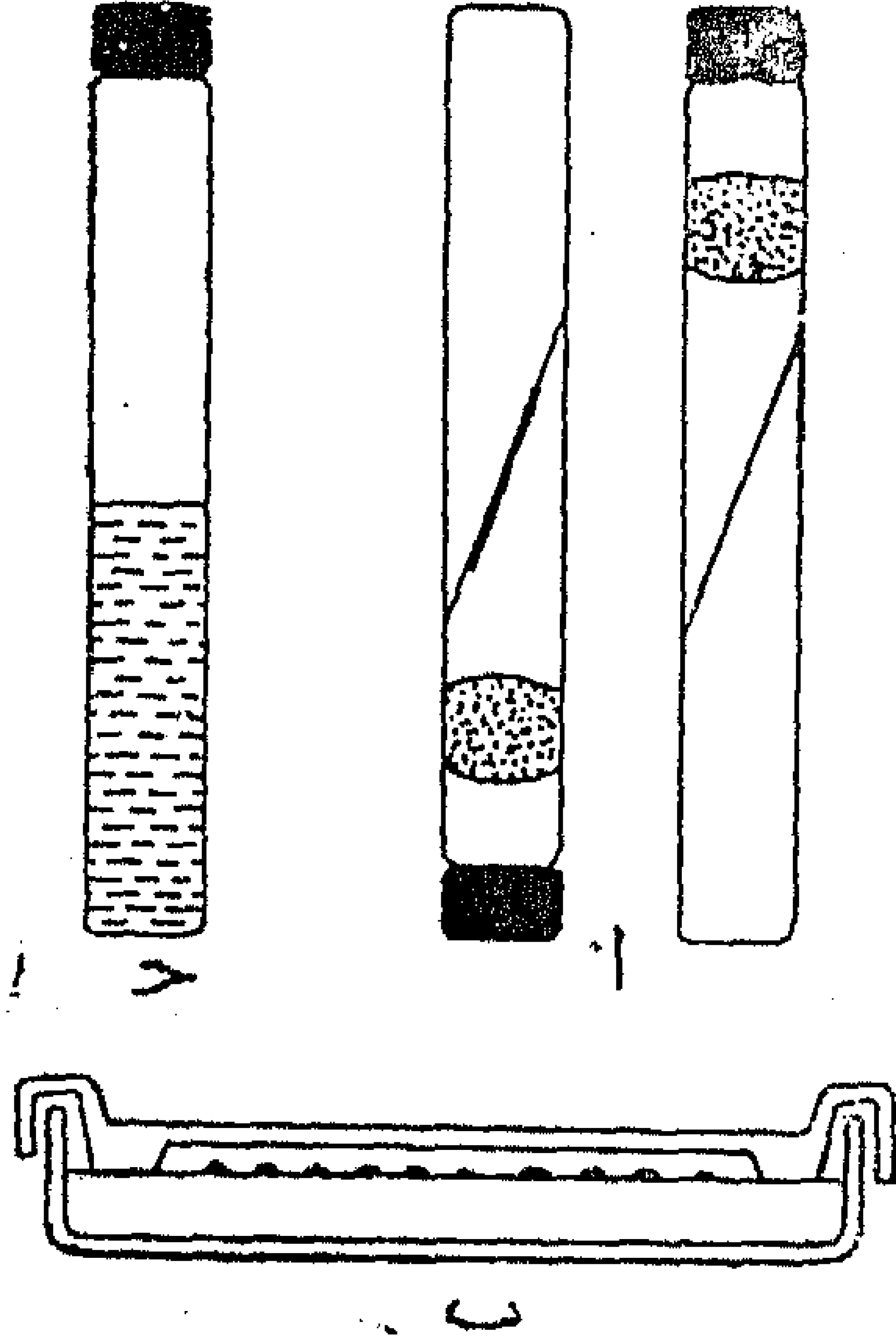


شكل ٦٩ : هزاز ميكانيكى (كهربائى) يؤدى حركة رحوية لزيادة تهوية المزارع أثناء فترة الحضانة .

سائلة مع رجها بأستمرار أثناء فترة الحضانة (شكل ٦٩) أو بتمرير تيار من الهواء المعقم خلال البيئة الملقحة أثناء فترةالحضانة على درجة الحرارة المثالية .

وتنمية البكتيريات غير الهوائية اجبارا تتطلب طرقا ومعدات خاصةإذ يجب ابعاد الأكسجين الجوى كلية عن البيئة قبل تلقيحها بالبكتيرياغير الهوائية ، وفيما يلى بعض الطرق المختلفة المتبعة لهذا الغرض :—

١ — اضافة بعض المركبات المختزلة مثل ثيوجليكولاتالصوديوم sodium thioglycollate إلى البيئة إذ أن ذلك يقلل محتوياتهامن الأكسجين ويهيىء بها ظروفا غير هوائية بدرجة كافية لتنمية البكتيريات غير الهوائية اجبارا .



[شكل ٧٠ : أ – طريقة حمض البيروجاليك وايدروكسيد البوتاسيوم لتوفير الظروف غير الهوائية يراعى قلب الأنبوبة بعد إضافة المواد المذكورة حتى لا تصل إلى سطح الآجار المائل الملقح ب – طبق بريور غير الهوائى Brewer anaerobi Jar يحتوى على آجار ثيوجليكولات الصوديوم حـ – بيئة سائلة تحتوى على ثيوجليكولات الصوديوم فى أنبوبة محكمة الفقل

٢ – إزالة الأكسجين ميكانيكيا من الأوعية المحتوية على البيئات الملقحة ويمكن اجراء ذلك بسحب الهواء عن طريق مضخة آلية وإحلال غاز النيتروجين ، أو خليط من النيتروجين وثانى أكسيد الكربون محله

٣ – اضافة بعض المواد الكيماويــة التى عندما تتفاعل مع بعضها داخل الأوعية المغلقة والمحتوية على البيئات الملقحـــة ، يستهلك كل الأكسجين من البيئة نتيجة لإتحاده مع بعض المواد المتفاعلة حيــث يؤدى ذلك إلى توفير جوا غير هوائى . ومن أمثلة هذه المواد (حمض البيروجاليك + ايدروكسيد البوتاسيوم) .

والأدوات المستعملة وطريقة استعمال بعض هذه الطرق مبينة (بشكل ٧٠)

وسوف نعود لمناقشة التحولات الايضية التى تتضمنها عمليات التنفس respiration (وهى إزالة الايدروجين أو الالكترونات من المركبات العضوية وتوصيلها إلى الأكسجين الجوى) وعمليات التخمر fermentation (وفيها يستقبل الايدروجين أو الالكترونات المزالة بواسطة مركبات أخرى غـير الأكسجين) وما يتبع هاتين العمليتين من تفاعلات ايضية مختلفة أخرى .

٤ — تركيز أيون الايدروجين :

ان لصغر حجم ايونات الهيدروجين ولسرعة تحركها أهمية كبيرة فى العمليات الكيماوية المختلفة وخاصة العمليات البيولوجية ، حيث أن كثيرا من هذه العمليات يتطلب إنتقال الايدروجين من جزيئات مركب ما إلى جزيئات مركب آخر ، وميل الايدروجين للتأين من حالته العضوية المرتبطة يؤكد بشكل واضح احتمال حدوث هذه التفاعلات بالخلايا البكتيرية ومثل هذه التفاعلات لا تؤثر كثيرا فى معدل نمو البكتيريات إنما يتأثر النمو بالعمليات التى من شأنها إطلاق ايونات الهيدروجين الحرة بالخلايا أو بالبيئة .

وتركيز أيونات الايدروجين يكون مخفضا عادة فى البيئات الطبيعية التى تعيش عليها الكائنات الحية الدقيقة ، ولكن لا يمكن لأى كائن أن ينمو فى بيئة خالية كلية من ايونات الايدروجين ، ولا يختلف تأثير تركيز ايونات الايدروجين عن تركيز ايونات المعادن ، حيث أن زيادة تركيزها بالبيئة يكون ساما للخلايا ، وأن التركيزات المتوسطة منه تسمح بالنمو ، فى حين أن تركيزاته المنخفضة جداً تكون غير موافقة للنمو ، أو بمعنى آخر يمكننا أن نقول أن البيئات الشديدة الحموضة أو شديدة القلوية توقف نمو وتكاثر الخلايا البكتيرية. ان معظم البكتيريات تفضل لنموها البيئات القريبة من التعادل حيث يقرب تركيز ايون الايدروجين من ١٠ –٧ . وإذا تساوى تركيز ايونات الايدروجين بالبيئة المتعادلة بالتركيز الموجود بداخل الخلايا فان كل خلية سوف تحتوى على عدد قليل من ايونات الايدروجين . والبيانات المدرجة بالجدول رقم ١٠ توضح التركيزات الدنيا والمثلى والقصوى لتركيز ايونات الايدروجين لعديد من البكتيريات والفطريات ، ويشار عادة إلى تركيز ايونات الايدروجين بتقدير لوغاريتمى يطلق عليه الـ pH [pH = — لوغاريتم تركيز ايون الايدروجين

(يد +)] أى أن الـ pH = لو $\frac{1}{[\text{يد} +]}$. وان قيم الـ pH تعمل على اظهار الاختلافات بين البكتيريا بدرجة أقل من الواقع وبفحص الجدول يمكننا أن نستخلص النقاط التالية :

١ — أن قيم الـ pH من ٤ — ٦ وهى على الجانب الحمضى وكذلك ٨ — ٩ على الجانب القلوى تمثل حدود النطاق الذى يحدث خلاله نمو معظم البكتيريات . وأن الدرجة المثالية لنمو البكتيريات عموما تكون قريبة من قيمة pH ٧ .

٢ — على الجانب الحمضى لا يمكن للبكتيريات ، فيما عدا قليل من الشواذ ، أن تنمو على درجة من الـ pH أقل من ٤ ، فى حين أن الخميرة والفطريات يمكنها أن تنمو على البيئات الزائدة الحموضة ، فبعض الفطريات يمكنها أن تنمو على درجة pH تصل إلى ٢ . ويؤيد ذلك مايمكن ملاحظته بالمعمل فى أن بعض الفطريات الناقصة قد تنمو بالزجاجات المحتوية على بعض الاحماض .

ومن البكتيريات الشاذة التى يمكنها تحمل الحموضة الزائدة البكتيرياالتابعة لجنس *Acetobacter* والمنتجة لحمض الخليك والبكتيريا التى تعيش فى معدات الحيوانات الثديية مثل *Zymosarcina verntriculi* حيث تصل قيمة الـ pH تحت هذه الظروف إلى الوحدة ، وكذلك البكتيريا التى تؤكسدالكبريت إلى حمض كبريتيك والمعروفة باسم *Thiobacillus thiooxidans* .

جدول رقم ١٠ : نطاق الـ pH ودرجته المثلى اللازمة لنمو بعض البكتيريات والفطريات

الكائن	الدرجة الدنيا	الدرجة المثلى	الدرجة القصوى
بكتيريا كروية :			
Streptococcus penumonia. (P)	٧	٧,٨	٨,٣
Streptococcus pyo genes (P)	٤,٥	٧,٨	٩,٢
Streptotcoccus liquefaciens.	٥,٥	٦,٢ — ٧	٨
بكتيريا عصوية :			
Escherichia coli	٤,٣	٦ — ٧	٩,٥
Aerobacter aerogenes.	٤,٤	٦	٩
Salmonella paratyphosumi (P)	٤	٦,٢ — ٧,٢	٩,٦
Salmonella typhosa (P)	٤	٦,٨ — ٧,٢	٩,٦
Shigella dysenterie (P)	٤,٥	٧	٩,٦
Brucella melitensis.. (P)	٦,٣	٦,٦ — ٨,٢	٨,٤
Erwinia carotovora.	٤,٦		٩,٣
Proteus vulgaris	٤,٤	٦,٥	٩,٢
Agrobacterium tumefaciens.	٥,٧		٩,٢
Thiobacillus thiooxidans.	١	٢ — ٤	٩,٨
Nitrobacter.	٥,٧	٨,٤ — ٩,٢	١٠,٢
Nitrosomonas	٦,٧	٨,٥ — ٨,٨	٩,٤
Streptomyces scabies	٥,٤	٩	٨,٥
Rhizobium luguminosarum (5 strains)	٣,٢ — ٥		١٠ — ١١
Bacillus subtilis	٤,٥	٦ — ٧,٥	٨,٥
Bac. anthracis.	٦	٧ — ٧,٤	٨,٥
Azotobacter chroococcum	٥,٨	٧,٤ — ٧,٦	
Mycob. tuberculosis (P)	٥	٦,٨ — ٧,٧	٨,٤

تابع جدول رقم ١٠

الكائن	الدرجة الدنيا	الدرجة المثلى	الدرجة القصوى
فطريات :			
Sacch. cerevaseae	٢،٤	٤ — ٥	
Mucar glomerula	٣،٢		٩،٢
Asperqitlus oryzae	١،٦		٩،٣
Penecl1tium italicum	١،٩		٩،٣
Pen. variable	١،٦		١١،١
Fusarium oxysporum	١،٨		١١،١
Phycomyces blakesleeanus	٣،٠	٣،٦ — ٤،١	٧،٥

٣ — من الملاحظ أن البكتيريات المرضة للانسان والحيوان والمشار لها بالجدول بحرف (P) تحتاج إلى مجال من قيمة الـ pH أضيق من البكتيريات غير الممرضة وأن الدرجة المثالية من الـ pH اللازمة لنموها تتراوح بين ٧،٢— ٧،٤ .

٤— أن البكتيريات الممرضة التى تعيش بالقناة الهضمية مثل مجموعة القولون coli-typhoid - dysentery groud تتحمل درجات من الحموضة أعلى منها فى حالة الطفيليات التى تنمو فى دم أو فى أنسجة العائل مثل بعض البكتيريات الكروية الممرضة أو أنواع *Brucella* أو . *Bac. anthracis*

٥ — الكائنات التى تعيش بالتربة تتحمل درجات أعلى من القلوية لذلك فان درجة الـ pH المثلى لبكتيريا التأزت تقع على الجانب القلوى ، كما أن بكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium* تتحمل درجات مرتفعة من القلوية

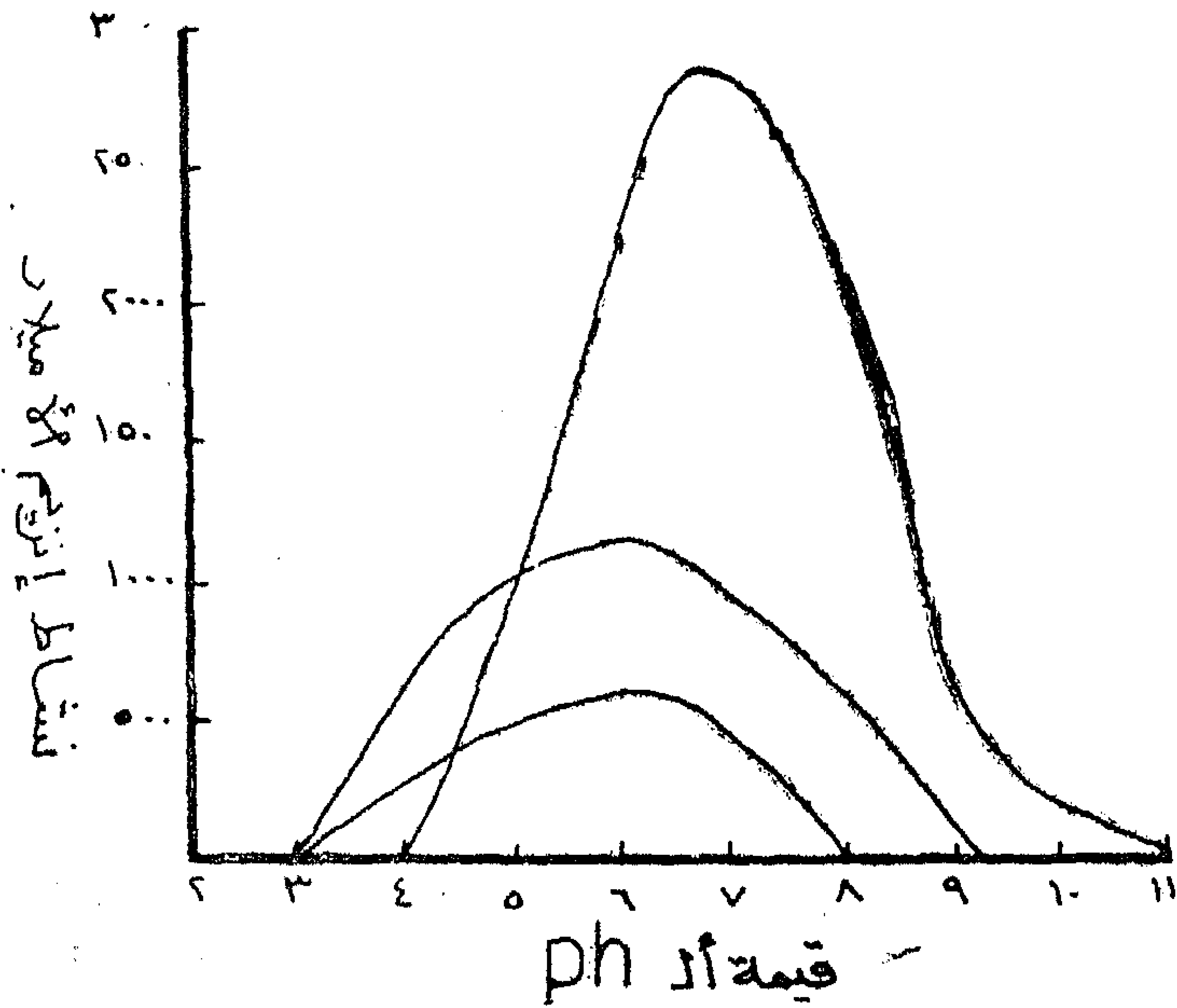
٦ — الاكتينوميسيتات لا تتحمل الحموضة وأن لبعضها درجة pH مثلى تقرب من ٨،٥ (على الجانب القلوى) .

وعند تنمية البكتيريات فى بيئة ذات درجة متعادلة من الـ pH (٧) فان مهاجمة الخلايا البكتيرية لمختلف مواد البيئة ينتج عنه أحماض أو قلويات تغير من قيمة pH البيئة ، وأن وجود هذه المواد بالبيئة قد يحدد من نمو البكتيريا أو يوقفه كلية ، لذلك يفضل خلط البيئات الغذائية عندتجهيزها ببعض المواد التى تعرف بالمواد المنظمة Buffers . وهذه المواد لها قدرة على معادلة التغييرات فى قيمة الـ pH والتى تحدث بالبيئة أثناء النمو . ففى مزارع البكتيريا التى تنتج أحماضا بدرجة ملحوظة يستحسن إضافة مادة قلوية غير قابلة للذوبان مثل كربونات الكالسيوم أو كربونات المغنسيوم إلى البيئة . أما فى حالة البكتيريات التى ينتج عن نموها مواد قاوية بالبيئة مثل تلك التى تختزل الكبريتات ، أوالنترات فأنه لا يسهل التخلص من تأثيرها القلوى بالمزرعة . وعادة يضاف مادة فوسفات احادى البوتاسيوم بويدم فوا، أو فوسفات ثنائى البوتاسيوم بو، يدفوا، ، كل بمفرده أو خليط منهما إلى البيئات الغذائية المعدة لتنمية البكتيريا لغرض تنظيم قيمة الـ pH أثناء نمو البكتيريات المختلفة بها.هذا وبعض المكونات الاساسية فى البيئات الغذائية مثل مادة الببتون يكون لها قدرة محدودة على تنظيم تفاعل البيئة علاوة على دورها الغذائى المعروف .

ويجب أن نعلم ، كما سبق أن بينا ، أن درجة تنظيم قيمة الـ pH بالبيئة الغذائية يتوقف كثيرا على الغرض الدراسى الذى تحضر من أجله المزرعة كما أنها تكون محدودة أيضا بما قد يتوفر للباحث من مواد منظمة .

ان تأثيرات قيمة pH البيئة على نمو البكتيريات والتفاعلات الأيضية الخلوية كثيرة ومتشعبة وليس هنا المجال لسردها جميعا إلا أنه يجب أن نبين أنه على الدرجات المنخفضة جدا أو المرتفعة جدا من قيمة الـ pH قد يحدث فساد للبروتين الانزيمى نتيجة لتخثره coaggulation ، تماما كما يحدث له عند ارتفاع درجة الحرارة . ويجب أن نعلم أن نشاط كل نظام انزيمى معين بالخلية له نطاق من قيم الـ pH يعمل فى حدوده كما يكون لنشاطه درجة

مثلى تقع فى منتصف هذا النطاق ، وأن أى انحراف عن هذه الدرجة المثلى يؤدى إلى الابطاء من نشاط الانزيم وينعكس هذا على معدل النمو ويبطئه . وعلاوة على ذلك قد يختلف أيضا مجال الـ pH وكذلك الدرجة المثلى منه للانزيم الواحد تبعا لنوع الخلايا المحتوية عليه ، ويبين (شكل ٧١) هذه الاختلافات فى حالة انزيم الأميلاز amylase والمعزول من مصادر حيوية مختلفة .



شكل ٧١ : تأثير الدرجات من الـ pH على نشاط الانزيم اميلاز amylase المعزول من مصادر مختلفة .

أ — اميلاز معزول من خلايا الفطر *Aspergillus oryzae*

ب — اميلاز معزول من خلايا حبوب الشوفان النابتة .

حـ — اميلاز معزول من خلايا بنكرياس .

٥ - الإشعاع Radiation

من المعروف أن بعض البكتريات تتطلب وجود الضوء المرئى لكى تنمو وتتكاثر مستعملة الطاقة الضوئية ومحولة إياها إلى طاقة كيميائية عن طريق عملية التمثيل الضوئى ، وتتميز هذه البكتريات بوجود مواد ملونة تشبه الكلوروفيل النباتى تعمل كمادة وسيطة فى هذه التفاعلات . ومن المعروف أيضا أن بعض الإشعاعات مثل الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet والأشعة السينية X—rays تحدث تأثيرا ضاراً بالبكتريات عموما فقد أجريت دراسات عديدة ومتشعبة للتحقق من الطرق التى يمكن لهذه الأشعاعات أن تقتل بها الخلايا البكتيرية توطئة للتعرف على الطرق التى من شأنها إتقاء التأثير الضار لهذه الإشعاعات وغيرها من الكائنات الأخرى الأكثر رقيا بما فيها الإنسان ولا سيما إذا ما علمنا أن درجة التشابه فى سلوك وحساسية الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية للإشعاعات المختلفة قد تسمح بتطبيق النتائج المتحصل عليها عند دراسة التأثيرات على مستوى الخلية الواحدة .

ويعرف الاشعاع Radiation بأنه انبعاث emission وبث Propagation الطاقة خلال الفضاء أو خلال وسط مادى .

وفيما يلى بيان لأطوال الموجات لبعض الاشعاعات المختلفة :

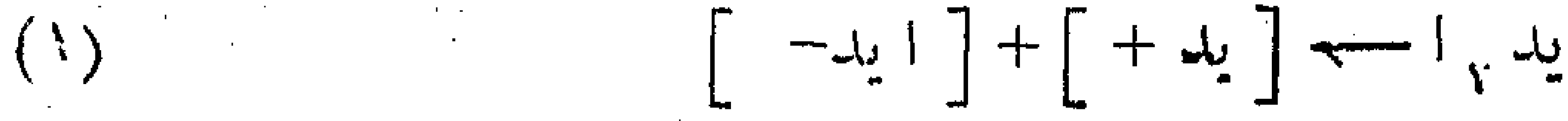
نوع الاشعاع		طول الموجة بالأنجستروم (Å)
الأشعة الكونية	Cosmic rays	٠,٠٠٠١ — ٠,٠١
أشعة جاما	Gamma rays	٠,٠١ — ٠,١
الأشعة السينية	X-Rays	١,٠ — ١٠٠,٠
الأشعة فوق البنفسجية	Ultraviolet	١٥٠,٠ — ٣٩٠٠,٠
الطيف المرئى	Uisible specturm	٤٠٠٠,٠ — ٧٠٠٠,٠
الأشعة دون الحمراء	Infrared	٠,٠٥ ألف — مليون
موجات الراديو	Radio waves	١ سم — ٥٤٥ مترا

ويلاحظ أن الإشعاعات ذات الموجات القصيرة عن الضوء المرئى يكون لها تأثيرا مميتا للكائنات الحية الدقيقة فهى بذلك تستعمل فى التعقيم دون أن ترفع من درجة حرارة المادة المعقمة وتعرف لذلك بطريقة التعقيم البارد cold sterilization ويمكن إستعمال هذه الطريقة فى تعقيم المواد الحساسة للحرارة المرتفعة مثل بعض أنواع الأدوية .

والأشعة فوق البنفسجية تتراوح أطوال موجاتها بين ١٥٠ — ٣٩٠٠ أنجستروم وأن طول الموجات حوالى ٢٦٥٠ أنجستروم يكون أكثر تأثيرا على البكتيريا ، ويلاحظ أن ضوء الشمس يتكون جزئيا من أشعة فوق بنفسجية ولكن معظم الجزء الضار يمتص بواسطة الغلاف الجوى المحيط بالأرض مثل الأوزون Ozone والسحب والغيوم . وبذلك فالذى يصل منها لسطح الأرض يكون مركز فى أطوال الموجات بين ٢٨٧٠ — ٣٩٠٠ أنجستروم . وعلى ذلك فان ضوء الشمس الذى يصل لسطح الأرض يكون له تأثير ابادى ضعيف جدا على الكائنات الحية الدقيقة .

وتوجد صمامات مبيدة للميكروبات germicidal bubls تعطى إشعاعات فوق بنفسجية (٢٦٠٠ — ٢٧٠٠ أنجستروم) تستعمل لتقليل التعداد الميكروبى فى غرف العمليات وفى مصانع الأدوية وصناعات الألبان والمواد الغذائية وكذلك معاملة الأسطح الملوثة . ويلاحظ أن الاشعاعات فوق البنفسجية لها قابلية قليلة فى اختراق المواد وأن طبقة رقيقة من الزجاج تزيل كمية كبيرة منها .

ودرست الطريقة التى تؤثر بها mode of action الأشعة فوق البنفسجية على الخلايا وكان يعتقد أن الاشعاعات تحدث تأينا لما تحتويه الخلايا من الماء ومن جزيئات الأكسجين التى تتواجد فى منطقة مرور الأشعة فى الخلية وأن ما ينتج من ايونات يتفاعل مع مكونات الخلية كما يلى :









وتفاعل نواتج تأين الماء (المعادلة رقم ١) ببعضها أو بنتاتج تأين الأكسجين الجزيئى (المعادلة رقم ٢) غير معروف على وجه التأكيد ولكن يقترح أنه يتكون نتيجة لهذه التفاعلات أما المركب غير الثابت المعروف باسم هيدروبيروكسيل hydroperoxyl radical — يدا$_{٢}$ — (المعادلة رقم ٣) أو فوق — أكسيد الايدروجين hydrogen peroxide — يد$_{٢}$ ا$_{٢}$ (المعادلة رقم ٤)٠

وكان يظن إلى وقت قريب أن فوق أكسيد الايدروجين هو المركب الوسيط الذى يتكون بالخلايا نتيجة للتعرض للاشعاعات ويعزى اليه التأثير الضار للخلايا ، إلا أن اضافة كميات صغيرة منه إلى بيئة نمو بعض البكتيريات (مساوية لتلك المحتمل تكونها بعد تعريض الخلايا لجرعة قوية من الاشعاعات) لم تؤد إلى موت خلاياها أو إحداث تأثيرات شبيهة بتلك التى تحدثها الاشعاعات لذلك ولأسباب أخرى لا يمكن اعتبار انتاج يد$_{٢}$ ا$_{٢}$ فى حد ذاته تفسير وافيا للفعل الضار للاشعاعات بالرغم من احتمال وجود مثل هذا الدور لبعض البيرواكسيدات peroxides العضوية الأخرى . والتفسير الأكثر احتمالا هو أن وجود ايونات الهيدروبيروكسيل [يدا$_{٢}$] وكذلك ايونات الهيدروكسيل (ا يد$^{-}$) الحرة بالخلايا عقب تعريضها للاشعاع هو الذى يحدث التأثير السام والمميت للخلايا عن طريق أكسدة هذه الأيونات لجزيئات السيتوبلازم ، والأجسام النووية بالخلية .

وحاليا يعتقد أن الاشعاعات تحدث تأثيرا مباشرا direct hit لمناطق حساسة من الخلايا تعرف بالهدف الحساس sensitive target وأن

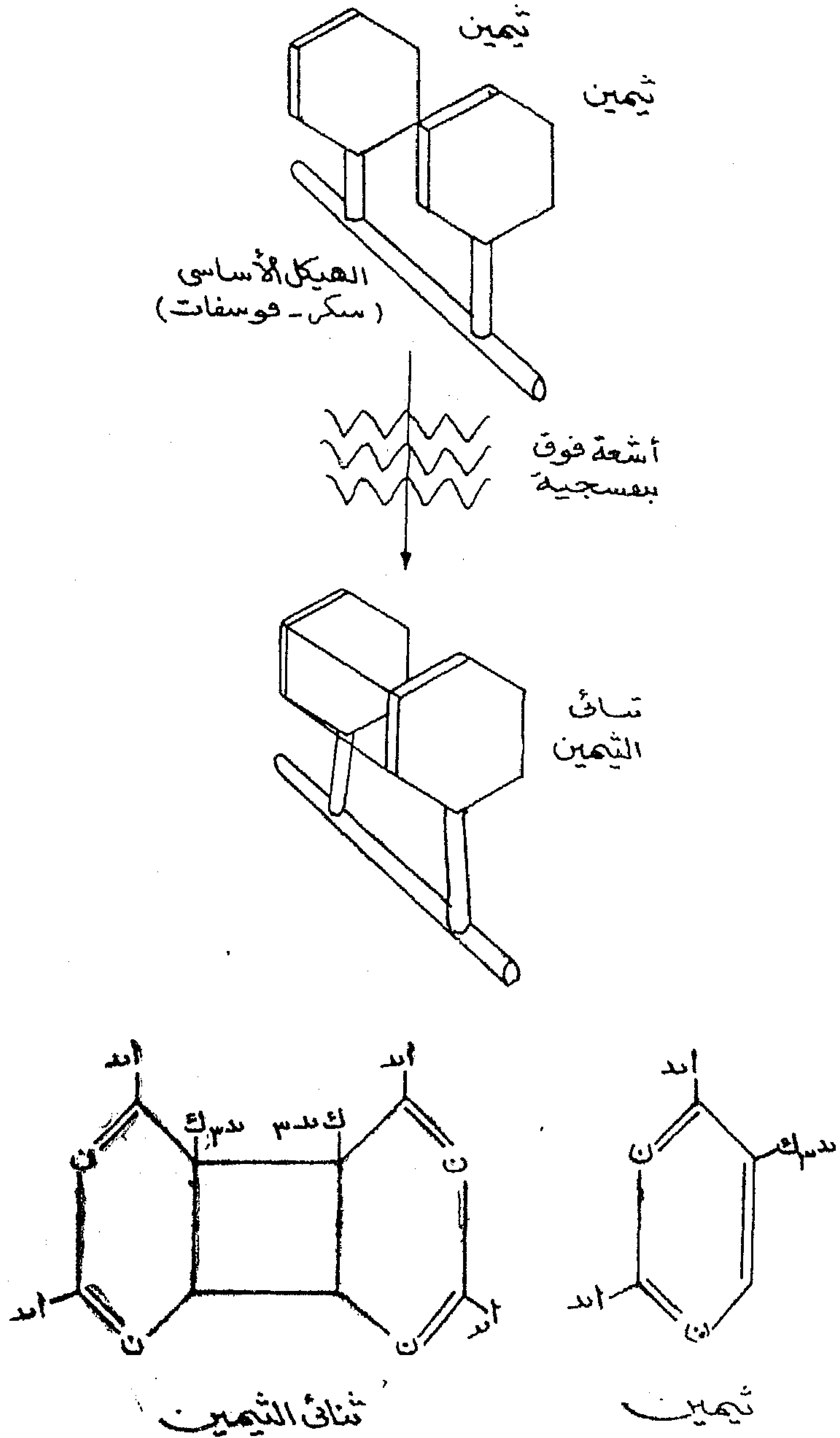
الطاقة الاشعاعية تمتص فى هذه المناطق وبالتالى يتغير تركيبها الجزيئى . وتعتبر المحتويات النووية لهذه المناطق أكثرها تأثرا . إذا ما علمنا أن المحتويات النووية تكون ذات قدرة عالية لأمتصاص الأشعة فوق البنفسجية عن غيرها من المحتويات الخلوية .

وثبت أن الأشعة فوق البنفسجية تسبب تكوين روابط تعاونية Covalent bonds بين جزيئين متجاورين من Thymine على نفس شريط الـ DNA وبذلك تتكون روابط فى داخل الشريط الواحد مما يؤدى إلى تكوين ثنائى الثمين Tymine thymine dimer . (شكل ٧٢) وأن هذه الروابط التعاونية تشوه شريط الـ DNA بدرجة تسبب اختلاف خواص الروابط الهيدروجينية للبيورينات والبيرميدينات بجوار هذا الـ Dimer ونتيجة لذلك فأنه قد تدخل بيورينات وبيرميدينات خاطئة فى الشريط الجديد من الـ DNA الذى سيتكون على امتداد الشريط المتغير :

وتوجد ظاهرة تسمى التنشيط الضوئى Photoreactivation فاذا عرض معلق من خلايا بكتيرية إلى جرعة ضارة من اشعاع فوق بنفسجى ثم عرض بعد ذلك مباشرة إلى الضوء المرئى فان بعض الخلايا المثبطة ستشفى وتسمى هذه الظاهرة التنشيط الضوئى ، أى بطريقة أخرى :

١ — خلايا عرضت إلى أشعة فوق بنفسجية .
٢ — أخذت عينة من الخلايا وزرعت وحضنت فى المعمل لتقدير عدد الخلايا الحية .
٣ — أخذت عينة أخرى وعرضت إلى الضوء المرئى وزرعت لتحديد الخلايا الحية .
٤ — يلاحظ أن عدد الخلايا الحية المقدرة فى ٣ سيزيد عن عدد الخلايا المقدرة فى ٢ .

ويلاحظ أن التنشيط الضوئى لا يصل إلى ١٠٠٪ .

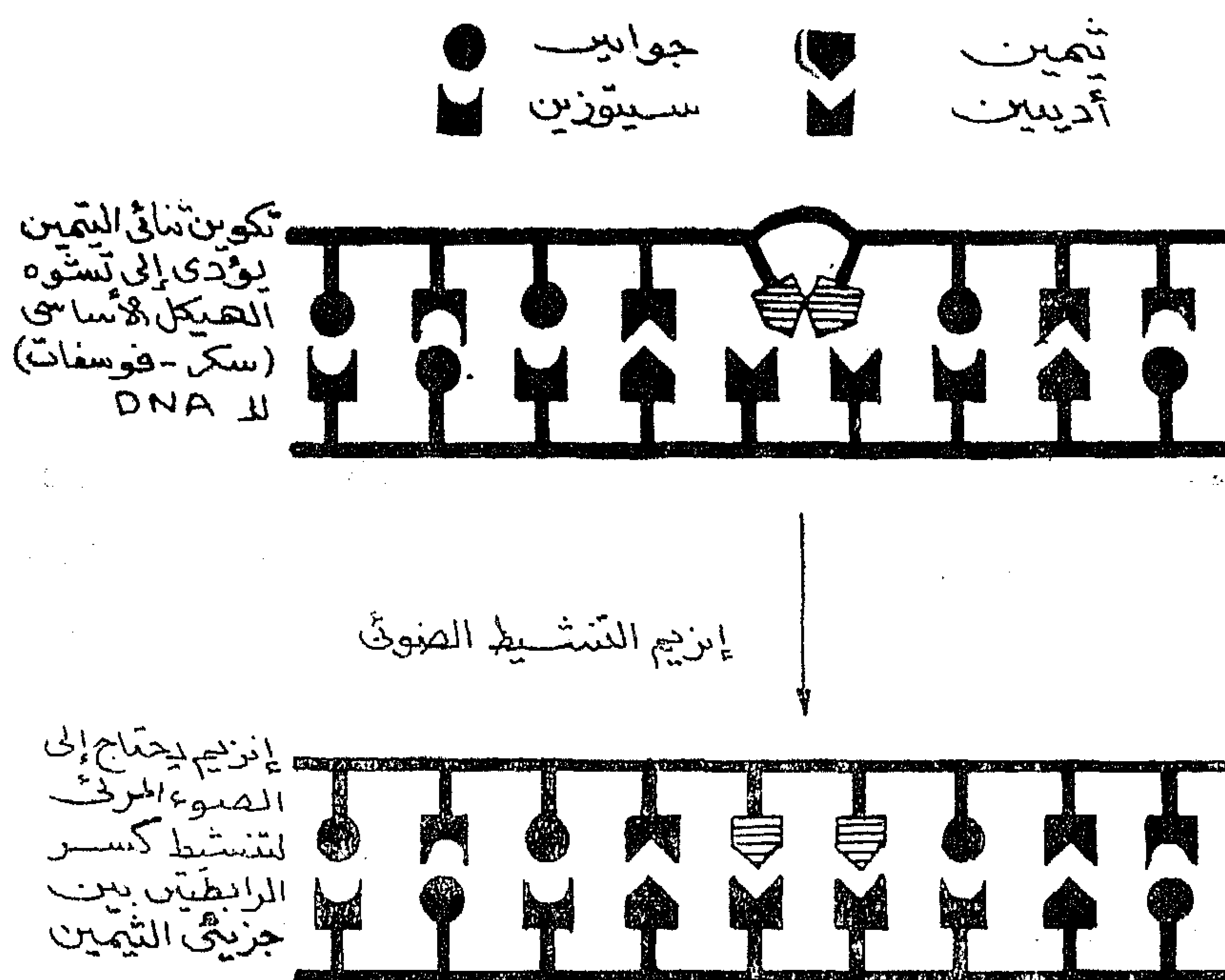


شكل ٧٢ : تكوين ثنائى الثيمين thymine - thymine dimer فى الـ DNA
نتيجة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية .

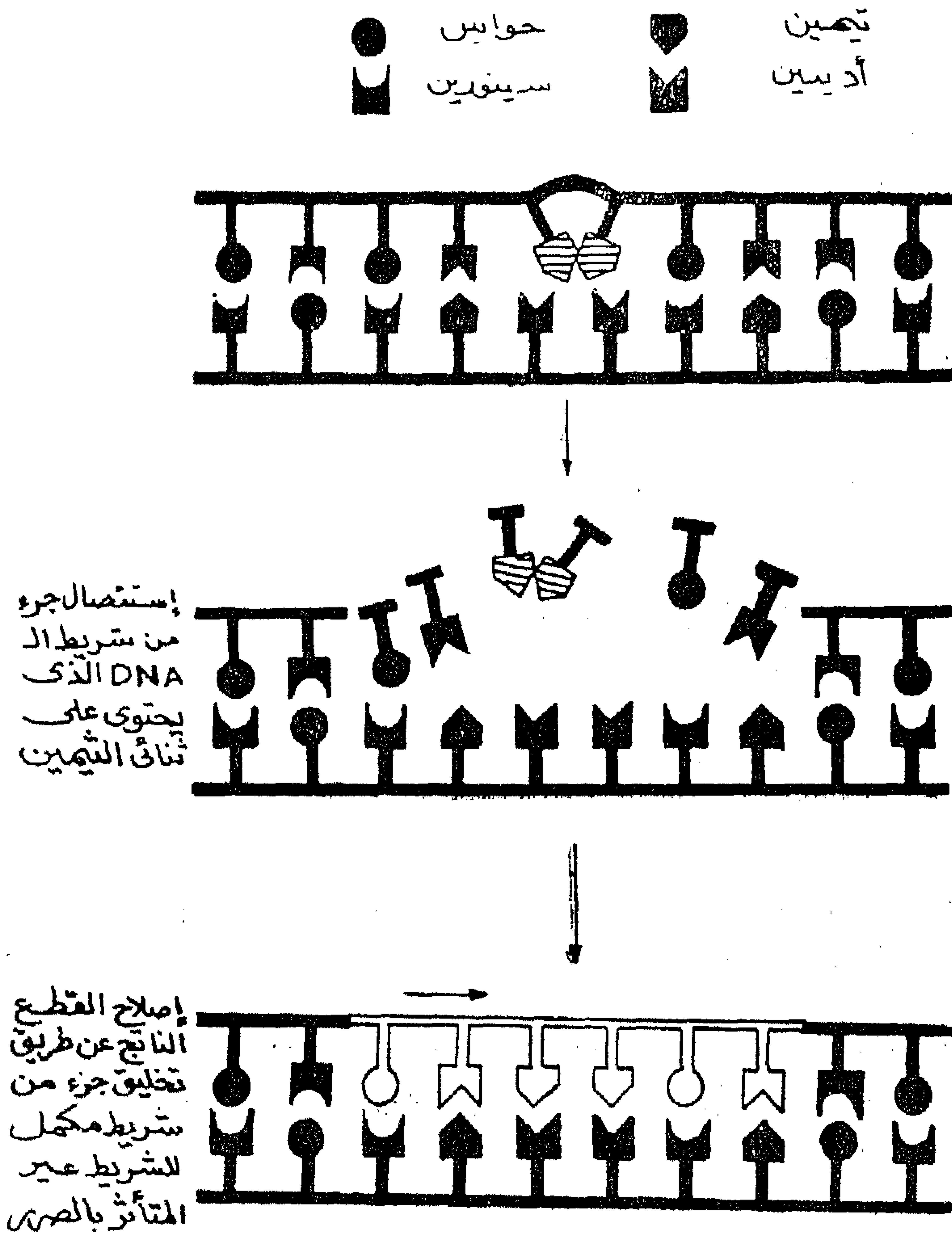
وتفسر هذه الظاهرة بأنه توجد فى بعض أنواع البكتيريا انزيمات لإصلاح الضرر الذى تحدثه الأشعة فوق البنفسجية فيوجد انزيم قادر – فى وجود الضوء – على تكسير الرابطة التعاونية التى تربط بين قاعدتى الثيمين وتسمى الاصلاح الضوئى Light repair (شكل ٧٣) .

بعض البكتيريا تمتلك انزيمات تقطع أو تستأصل الجزء من شريط الـDNA المفرد الذى حدث له ضرر DNA. nuclease ، وانزيمات أخرى تصلح القطع الناتج عن طريق تخليق جزء من شريط مكمل للشريط غير المتأثر بالضرر DNA Polymerase . وحيث أن هذه الانزيمات لا تحتاج إلى الضوء لتؤدى عملها فتوصف هـذه العملية باسم الاصلاح فى الظلام Dark repair (شكل ٧٤) .

وأشعة X-Rays وهى ذات تأثير مميت على الكائنات الدقيقة ، ولها القدرة على التغلغل ولو أنها غير عملية لاستعمالها فى مقاومة مجاميع الميكروبات ذلك لأنها عالية التكاليف ، ولكنها تستعمل بكثرة فى مجال الميكروبيولوجى وذلك لانتاج طفرات ميكروبية Microbial mutations ، أما أشعة جاما Gamma Rays وهى اشعاعات ذات طاقة عالية تنبعث من بعض النظائر المشعة Radioactive isotopes مثل كوبالت ٦٠ . وهى تشبه أشعة X ولكن لها طول موجات أقصر ، ولها قدرة كبيرة على التغلغل خلال المواد وقاتلة للكائنات الدقيقة ولذلك يمكن استعمالها فى تعقيم المواد مثل الأغذية. ويبدو أن الطريقة التى تؤثر بها Mode of action على الخلايا أنها تحدث Direct hit على بعض المواد فى داخل أو بالقرب من الخلية محدثة تأين Ionization والذى يحدث موت الخلايا .



شكل ٧٣ : الإصلاح الضوئى light repair لثنائى الثيمين thymine - thymine dimer فى الـ DNA .



شكل ٧٤ : الإصلاح فى الظلام Dark repair لثنائى الثيمين thymine - thymine dimer فى الـ DNA

المراجـــع

Allen, M.B. 1953. The thermophilic aerobic sporeforming bacteria. Bact. Rev., 17 : 125.

Edward, O.F. and L.F. Rettger. 1937. The relation of ccr ain respiratory enzymes to maximum growth temperature of bacteria. Jour Bacteriol 34 : 489.

Gaughran, E. R. L. 1947 The thermophilic microorganisms. Bact. Rev., 11 : 189.

Hollaender, A. 1952. Modification of irradiation effect on bacteria J. Bacteriol., 63 : 591, 805.

Levy, J., J, J, R, Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology, John wiley and Sons INC. New York. 684 p.

Marsland, D, 1951. The effect of hydrostatic pressure on cell division, Ann., N. Y, Acad. Sci., 51 : 1327.

Mitchell, P. 1951. Physical factors affecting growth and death. in C. H. Werkman and P. W, Wilron (eds.) Bacterial physiology, Acad. Press. N. Y. 1951,

Nester, E. W., C. E. Roberts, N. N. Pearsall, and B. J. Mc Carty. 1978. Microbiology. Holt. Rinehart and Winston New York. 769 p.

Nichson, J. J. 1952. Symposium of radiobiology. John Wily and Sons, N.Y

Perkins, J. J. 1956. Principles and methods of sterilization. Charles C. Thomas, Spring field 111.

Rahn, O. 1945. Physical methods of sterilization of microorganism. "Bacteria" McGraw – Hill book company. Inc.

Rahn, O. and W. R. Schoeder, 1941. Inactivation of enzymes as the cause of death in bacteria. Biodynamica, 3 ; 199.

Rahn, O. 1932. Physiology of Bacteria. McGraw - Hill book company

Robinsn, J. N. Gibbons, F, Thacher. 1952 Mechanism of halophism in *Micrococcus halodeitrificans* J. Bacteriol. 64 ; 69.

zobell, C. E. and C. H. Oppenheimer, 1950. Some effects of hydrostatic pressure on the mulliplication and morphology of bacteria J. Bacteriol. 60 ; 771.

الفصل الرابع

تأثير العوامل الكيماوية على نمو وتكاثر البكتيريا

سبق أن بينا أن المزارع البكتيرية النقية التى تجهز بالمعمل لا يمكنهـا أن تستمر فى النمو إلى مالا نهاية بالرغم من توفر الظروف الفيزيائية المناسبة لنموها. ويرجع ذلك إلى نفاد المواد الغذائية فى البيئة المحدودة التى تنمو عليها وإلى تكدس نواتج النمو السامة بالمزرعة . ويحدث هذا أيضا فى الطبيعة حيث يتأثر النوع البكتيرى بالمواد الكيماوية الناتجة من نمو غيره من الكائنات فى البيئـة المختلطة النامى بها . وتعمل الطبيعة بطرقها المختلفة على إحداث توازن لتنظيم سيادة الأنواع المختلفة فى بيئاتها الطبيعية . ومن الطرق الرئيسية التى تؤثر على هذا التوازن الطبيعى تفشى ظاهرة التطفل parasitism والتى يعيش فيها كائن حى يعرف بالطفيل parasite معتمدا على كائن حى آخر يعرف بالعائل host ليستمد منه الغذاء اللازم لنموه وليجد فى أنسجته المكان المناسب لنموه وتكاثره ، والكائن الذى يعيش معتمدا على غيره من الكائنات بدون أن يحدث له ضررا واضحا يعرف باسم المرافق commensal وتعرف الظاهرة باسم الاصطحاب commensalism . فى حين أن ظاهرة التطفل تكون نتيجتها حدوث ضرر للعائل وإذا زاد الضرر فهى تؤدى إلى موت العائل . والكائنات المتطفلة هذه يطلق عليها اسم الكائنات الممرضة pathogens فبعضها يكون ممرضا للنباتات والبعض الآخر يكون ممرضا للحيوان والانسان .

وقد بدأ الانسان منذ زمن بعيد فى التحكم فى بيئته الحيوية ، والكيماوية ، وفى الظروف الفيزيائية المحيطة به ، وتوجيهها بالطرق التى تتفق مع مصلحته وسلامته ورفاهيته . فقد تمكن الانسان من التحكم فى بيئته البيولوجية حيث قام باستئناس الحيوانات النافعة ، وزراعة المحاصيل المفيدة إلا أنه لازال معرضا للأصابة بكثير من الأمراض التى تفتك به مثل الطاعون ، والملاريا ، والتيفود

والدوسنتاريا ، والبلهارسيا ، وغيرها من الأمراض الميكروبية . لذلك بدأ الانسان فى التفكير فى كيفية مقاومة الكائنات التى تسبب له هذه الأمراض كما تشعبت دراسته إلى التفكير أيضا فى مقاومة الكائنات التى تصيب حيواناته النافعة ، ومحاصيله الزراعية محدثة لها أمراضا مختلفة .

وبتجربة عدد كبير من المواد الكيماوية توصل الانسان إلى التعرف على عدد قليل منها تستعمل كمواد علاجية therapeutic agents تقتل المسببات المرضية وهى داخل أنسجة العائل . وحيث أن هناك تشابها فى العمليات الايضية المختلفة بين الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية يمكننا أن نتفهم السبب فى القلة الملحوظة فى عدد المواد الكيماوية العلاجية chemotherapeutic agents المستعملة والتى اختيرت من الآلاف العديدة الأخرى من المواد الكيماوية المختبرة والتى يؤثر غالبيتها على كل من الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية والتى لا يمكن استعمالها فى الأغراض العلاجية . والمواد الكيماوية التى لا يمكن استعمالها فى علاج الأمراض الميكروبية داخليا فى جسم العائل أمكن استعمالها لقتل الكائنات الممرضة خارجيا . هذا وعدد هذا النوع من المواد كبيرا نسبيا .

وسوف تتناول مناقشتنا فى هذا الفصل كيفية تأثر الخلايا البكتيرية بالمواد الكيماوية المختلفة سواء منها ما كان يستعمل داخلياً فى علاج الأمراض أو فى أغراض التطهير أو التعقيم الخارجى .

ان درجة تأثر الخلايا البكتيرية بالمادة الكيماوية السامة تتوقف على عدة عوامل أساسية منها درجة تركيز المادة الكيماوية ، ونوع البكتيريا وتعدادها ، وطول فترة تعرضها للمادة الكيماوية . وهناك عوامل ثانوية يمكنها أيضا أن تؤثر على درجة مقاومة الخلايا للفعل السام للمواد الكيماوية أهمها قيمة الـ pH ، ودرجة الحرارة ، ووجود المواد العضوية بالبيئة .

سبق أن عرفنا الخلية الحية بأنها تلك القادرة على التكاثر ، والخلية البكتيرية

التى يمكنها أن تنجو من التأثير السام للمادة الكيماوية هى اذن تلك التى تكون قادرة على التكاثر فى وجود المادة . وأحيانا لا تتكاثر الخلايا فى وجود المادة الكيماوية ولكنها قد تواصل نموها وانقسامها إذا ما أبعدت عن تأثير المادة الكيماوية ، والمواد الكيماوية التى تمنع نمو وتكاثر البكتيريات عندما تكون ملاصقة لها باسم المواد الموقفة للنمو bacteriostatic ؛ أما المواد الكيماوية التى يمكنها إحداث تأثير ضار ودائم للخلايا البكتيرية بمعنى أنهاتوقف انقسام الخلايا بصفة دائمة تعرف باسم المواد المبيدة bactericidal . ولما كانت معظم الدراسات فى هذا المجال تمت على البكتيريات الممرضة لذلك كان يطلق اسم المطهرات antiseptic على المواد الكيماوية الموقفة للنمو واسم disinfectant على المواد المبيدة للبكتيريات إلا أن هذه التسميات لم تعد تستعمل الآن .

ومن المهم أن نذكر أن التأثير المبيد والتأثير الموقف للنمو بصفة مؤقتة يعتمد كثيرا على تركيز المادة الكيماوية ، بمعنى أن مادة واحدة قد يكون تأثيرها موقفا للنمو فقط عندما تكون على تركيزات منخفضة فى حين أنها تحدث تأثيرا مبيدا لنفس البكتيريا عندما يزيد تركيزها عن حد معين ، إذن فلكل مادة كيماوية نطاق من التركيزات يتراوح بين التركيز غير الضار (عندما تكون على تركيزات منخفضة جدا) ، والتركيز المبيد أو المميت ويقع بينهما التركيز الموقف للنمو . وهناك بعض المواد الكيماوية السامة قد يكون لها تأثير منشط للنمو فى حدود ضيقة من التركيزات المنخفضة وغالبا ما يقع هذاالتركيز المنشط للنمو من هذه المواد بين تركيزها غير الفعال ineffective وتركيزها الموقف للنمو والسبب فى حدوث ظاهرة التنشيط هذه لازال غير مفهوم ، وهناك بعض سلالات من البكتيريا *E. coli* تكون حساسة لتأثير المضاد الحيوى streptomycin كما يوجد سلالات أخرى تقاوم فعل التركيزات المرتفعة من هذا المضاد الحيوى هذا وتوجد منها سلالات لا يمكنها النمو فى غياب تركيزات معينة من هذا المضاد الحيوى وهذه السلالات الأخيرة تعرف بالسلالات المعتمدة على

الاستربتوميسين streptomycin dependent ويعلل ذلك بأن هـذه السلالات تفضل هذا المضاد الحيوى كمصدر للكربون اللازم لنموها .

طرق تقدير التأثير السام للمواد الكيماوية :

لدراسة التأثير السام للمواد الكيماوية يمكن اتباع الطرق الآتية :

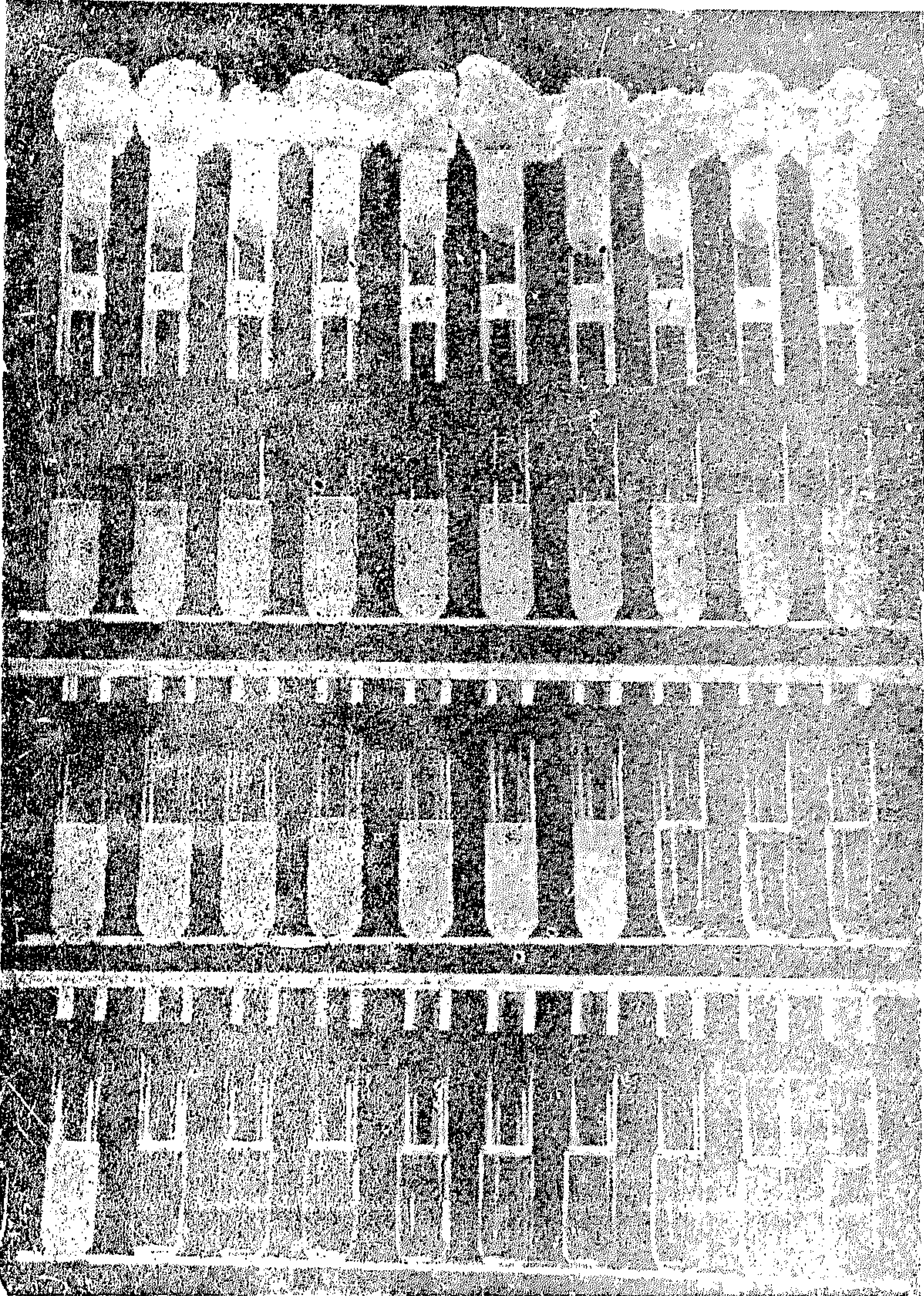
أولا : طرق تستعمل فيها البيئات الغذائية السائلة :

١ — تضاف المادة الكيماوية إلى البيئة المعقمة بالتركيز المطلوب ثم تلقح بالميكروب المراد اختبار حساسيته ثم تؤخذ عينات دورية على فترات منتظمة من هذه المزارع لاختبار حيويتها ، وذلك بزرعها فى بيئات غذائية خالية من المواد الكيماوية ، ويمكن بهذه الطريقة معرفة ما إذا كانت المادة موقفة للنمو أو مبيدة للخلايا على الفترات المختلفة من الحضانة .

٢ — تضاف المادة الكيماوية إلى البيئة المعقمة بالتركيز المطلوب ويحدد الوقت الذى تعرض فيه البكتيريا لفعل المادة الكيماوية . ثم ينقل لقاح منها إلى بيئة خالية من المادة السامة فى نهاية فترة الحضانة . وتؤدى هذه الطريقة إلى معرفة طبيعة المادة السامة (موقفة للنمو أم مبيدة) .

وعادة تستعمل الطريقتان المذكورتان فى تحديد تأثير المضادات الحيوية أو المواد العضوية التى تضاد فعل المواد الكيماوية antimetabolites كالأحماض الأمينية والفيتامينات .

٣ — تضاف تركيزات متزايدة من المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية السامة فى سلسلة من الأنابيب المحتوية على بيئة سائلة ملقحة بكميات لقاح موحدة وتعرف هذه الطريقة باسم طريقة التخفيف فى الأنابيب tube dilution method ثم يقدر النمو بكل أنبوبة (كل تركيز) باستعمال طرق تقدير درجة التعكير إما كميا أو نوعيا . وبهذه الطريقة يمكن معرفة المجال من التركيز الذى يشمل أقل



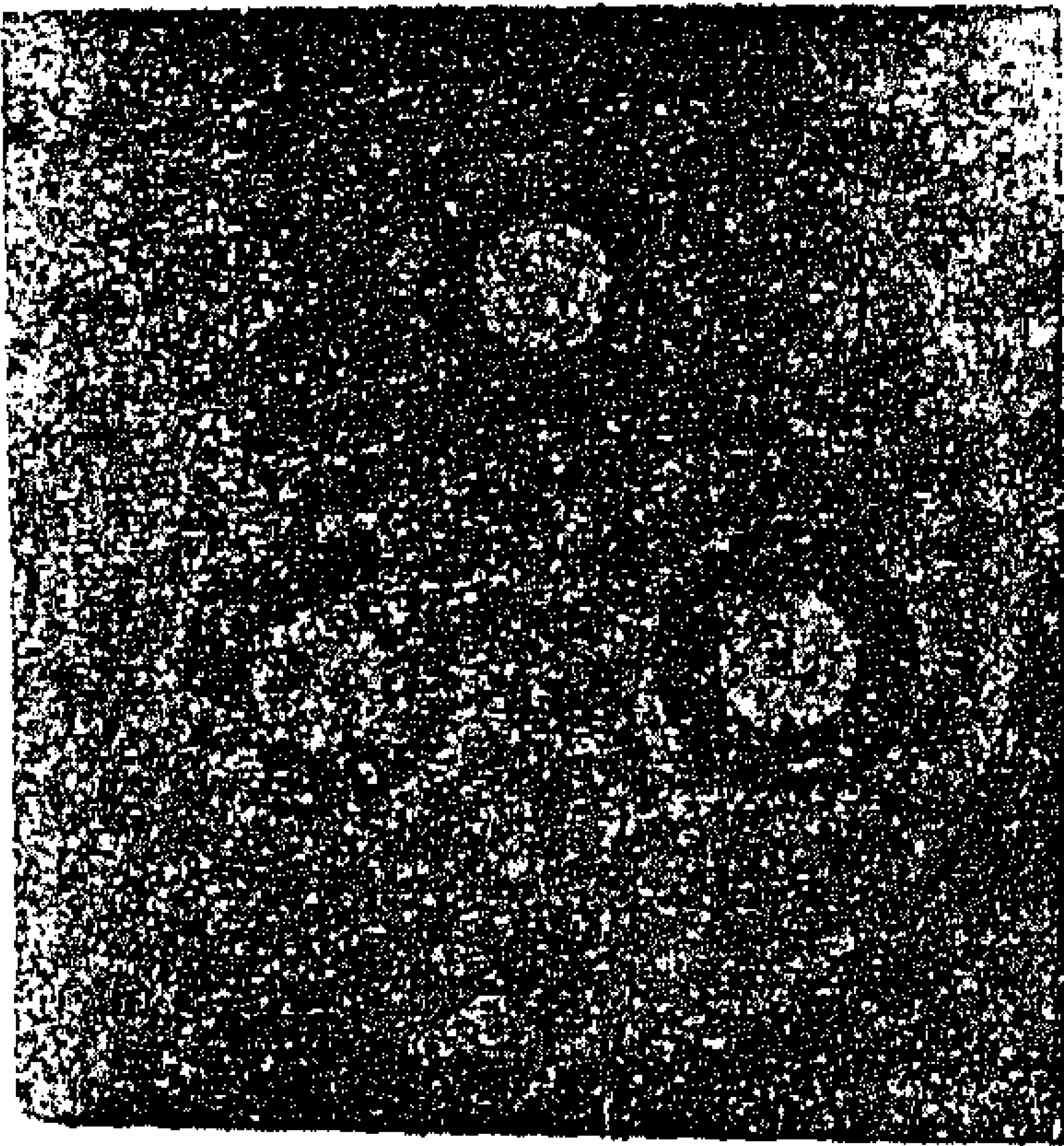
شكل ٧٥ : طريقة التخفيف المتسلسل بالأنابيب tube-dilution method لأختبار تأثير التركيزات المختلفة من المواد الكيماوية على نمو البكتيريا . ولتقدير المجال من التركيز الذى يقع فيه التركيز الموقف للنمو . الصورة العليا اسلسلة من تركيزات (صفر — ١٦٪) من مادة غير فعالة. الصورة الوسطى لمادة فعالة يقع تركيزها الموقف للنمو بين تركيز (٢–٤٪) ، والصورة السفلى لمادة أكثر فاعلية يقع تركيزها الموقف للنمو بين (صفر–٠,٦٪) . إن تأثير تركيزات المواد الثلاث درست بأستعمال سلالة بكتيرية واحدة .

تركيز من المادة الكيماوية يمكنة أن يوقف نمو البكتيريا المختبرة لا minimal inhibitor concentration range ويقع هذا المجال عادة بين تركيز الأنبوبة التى لم يحدث بها نمو اطلاقا وتركيز الأنبوبة المجاورة لها فى أتجاه تناقص التركيز والتى حدث بها نمو واضح (شكل ٧٥) .

ثانياً — طرق تستعمل فيها البيئات الصلبة :

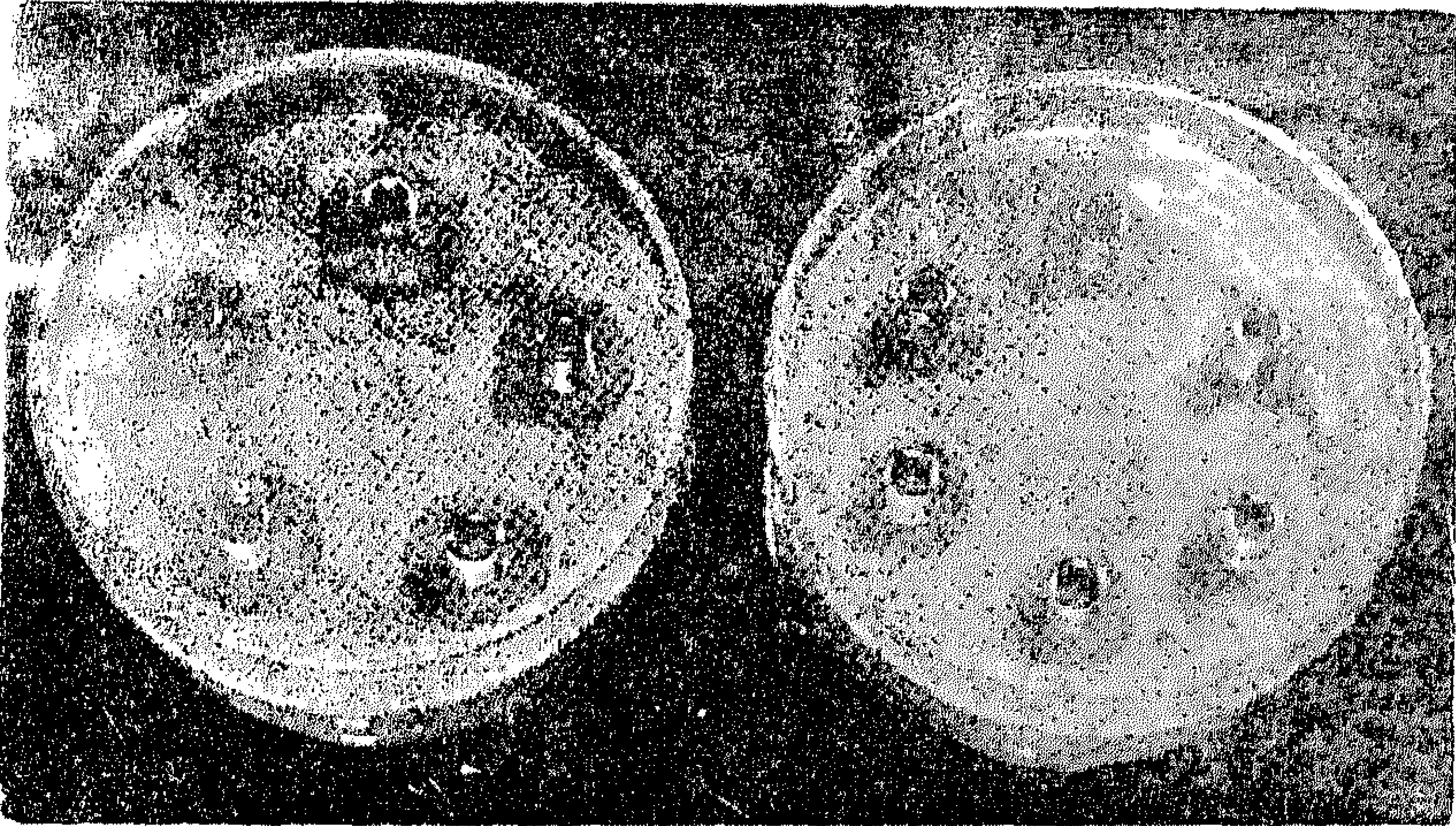
١ — تضاف المادة الكيماوية بالتركيز المطلوب لبيئة الآجار وهى مسال (٤٥°م) وتمزج بها جيدا ثم تصب بأطباق بترى وتترك لتتصلب ثم يلقح سطحها بالميكروب المختبر . كما يمكن تلقيح أكثر من نوع بكتيرى واحد كل فى منطقة خاصة بالطبق . وبعد فترة حضانة مناسبة ، يفحص النمو الناتج على سطح الآجار .

٢ — طريقة أقراص ورق الترشيح Filter paper disc method تصب بيئة الآجار المناسبة والخالية من المادة الكيماوية السامة بعد تلقيحها بالبكتيريا المراد اختبار حساسيتها فى أطباق بترى معقمة وتترك المزرعة لتتصلب . ثم يوضع على سطح الآجار المتصلب عدد من أقراص أوراق الترشيح محملة بتركيزات معلومة من المضادات الحيوية أو المواد الكيماوية السامة الأخرى . ثم تفرخ على درجة الحرارة الملائمة ، (شكل ٧٦) .



شكل ٧٦ : طريقة اقراص ورق الترشيح ensitivity filter paper disc method لأختبار تأثير التركيزات المختلفة من مادة السيتربتومايسين على نمو البكتيريا *E.amylovora* لاحظ درجة إتساع المناطق الخالية من النمو حول كل قرص .

٣ — طريقة الاسطوانات Cylinder plate method : تصب نصف كمية بيئة الآجار المناسبة والخالية من المادة الكيماوية ومن اللقاح فى أطباق بترى معقمة وتترك لتتصلب ، ثم يوضع على سطح الآجار المتصلب عدد من الاسطوانات المعدنية القصيرة والتى تعرف باسم Oxford Penicillin cylinders ثم يصب النصف الآخر من كمية الآجار بعد تلقيحه بالبكتيريا المراد دراسة حساسيتها ، وتترك لتتصلب فتثبت الاسطوانات الصغيرة بالبيئة . يوضع بكل اسطوانة كمية تتراوح بين ٠٫٢٥ — ٠٫٥ مل من محلول المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية بالتركيز المرغوب . ثم توضع الأطباق بالحضان على درجة الحرارة المطلوبة (شكل ٧٧) .

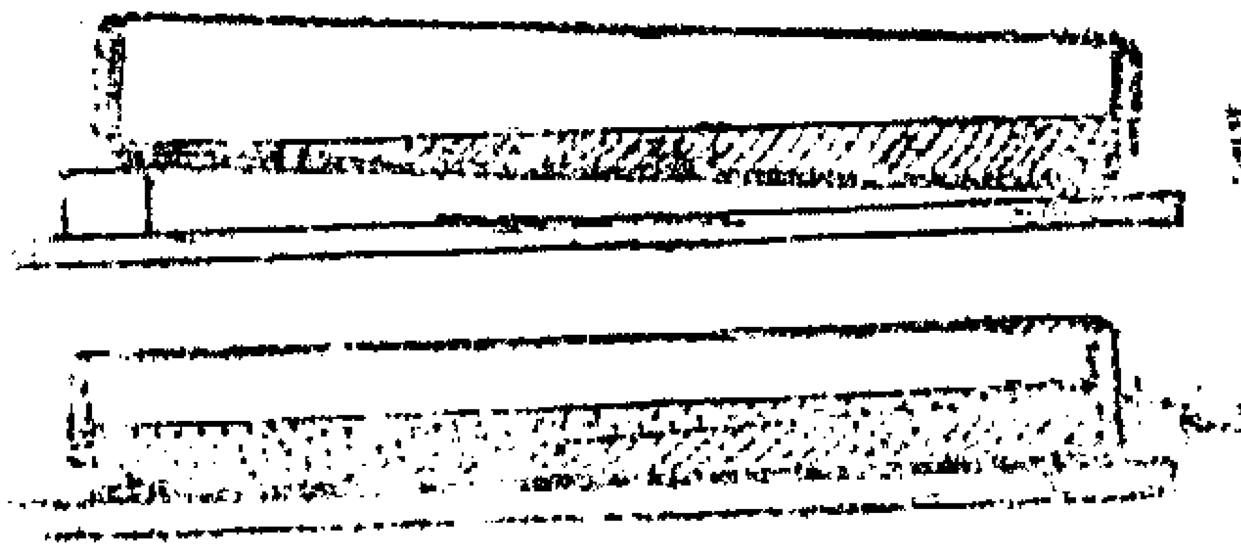


شكل ٧٧ : طريقة الاسطوانات Penicillin Oxford cylinder method لاختبار تأثير المواد الكيماوية (بتركيزات مختلفة على نمو البكتيريا) لاحظ درجة اتساع المناطق الخالية من النمو حول كل اسطوانة .

والفكرة الأساسية فى الطريقتين الأخيرتين (٢ ، ٣) مبنية على أساس قدرة المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية السامة الذائبة على الانتشار من قرص ورقة الترشيح أو من الاسطوانات القصيرة إلى البيئة المحيطة فى تركيزات

متناقصة كلما بعدت عن القرص أو الاسطوانة . ونتيجة لذلك فان البكتيريا تنمو متباعدة عن التركيزات السامة لها ، تاركة منطقة دائرية خالية من النمو zone of inhibition . فعند قياس قطر أو نصف قطر هذه المنطقة يمكن أخذ فكرة عن مدى حساسية البكتيريا للمادة الكيماوية المستعملة، وتتميز هذه الطرق بامكان اختبار تأثير أكثر من مادة على درجة موحدة من التركيز وفى هذه الحالة يجب توحيد كل الظروف (كمية المحاول بالاسطوانة ، عمق الاسطوانة بالبيئة ، كمية وتركيز المادة بالقرص) . كما أنه يمكن استعمالها لاختبار التركيزات المختلفة من المادة الواحدة فى طبق بترى واحد .

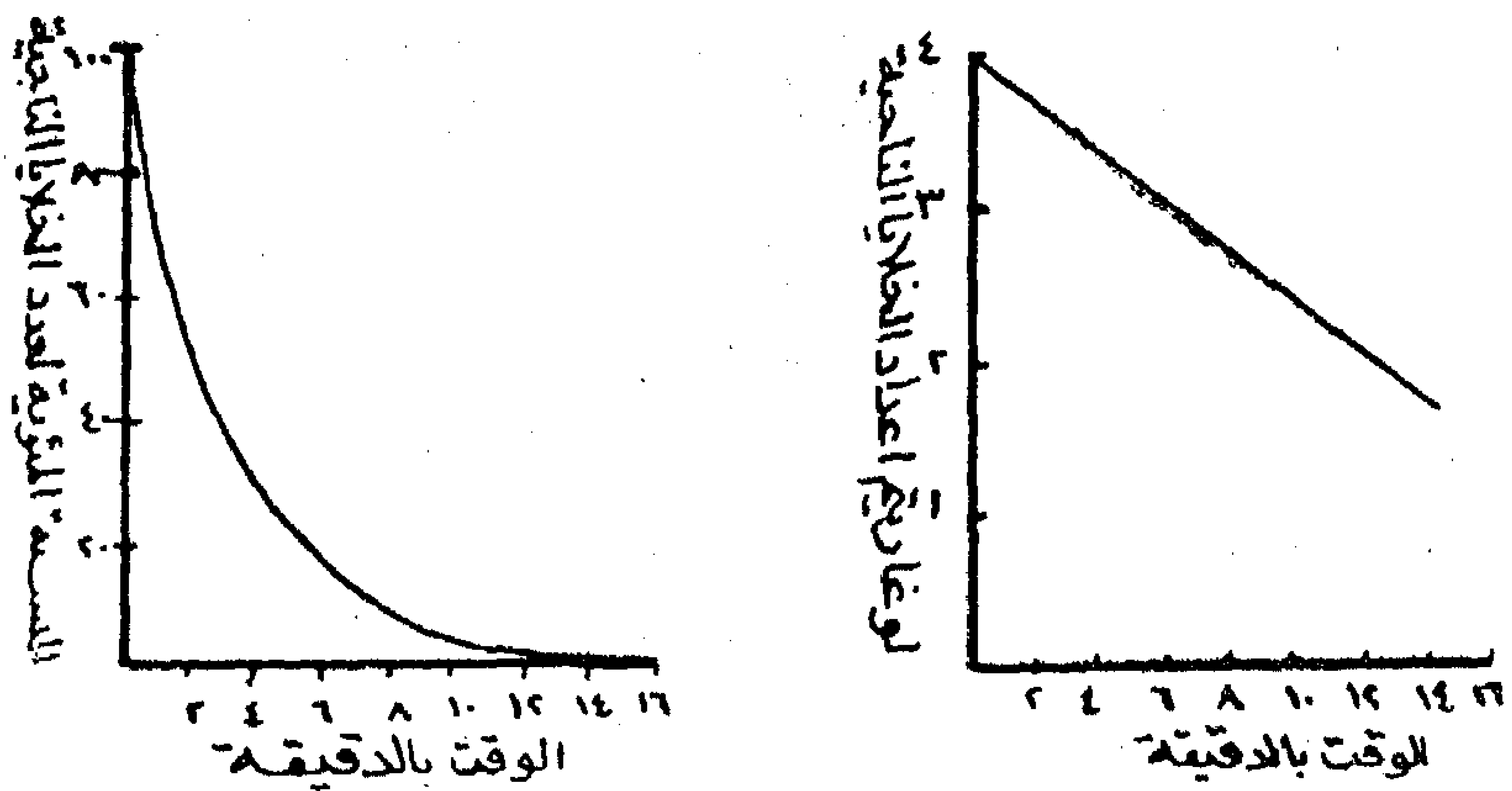
٤ — طريقة الطبق المتدرج Gradient plate method : تصب نصف كمية الآجار المسال بعد خلطها بالتركيز المرغوب من المادة الكيماوية وتترك لتتصلب بالطبق وهو فى وضع مائل (يوضع أحد جانبى الطبق على قطعة من الخشب بحيث يكون هذا الجانب مرتفعا عن الجانب الآخر أثناء تصلب الآجار شكل ٧٨) . يلقح النصف الآخر من بيئة الآجار المسالة (٤٥°م) بالبكتيريا المراد اختبار حساسيتها ثم تصب بنفس الطبق وتترك لتتصلب والطبق فى وضع افقى تماما ، وحيث أن المادة الكيماوية سوف تنتشر من طبقة الآجار السفلى إلى الطبقة العليا الخالية منها فان درجة الانتشار سوف تتوقف على سمك طبقة الآجار التى تعلوها لذلك فان تركيز المادة الكيماوية سوف يكون متدرجا بالطبق (شكل ٧٨) وتستعمل هذه الطريقة أيضا لعزل الطفرات المقاومة للتركيزات المرتفعة للمواد الكيماوية أو المضادات الحيوية كما سيذكر فيما بعد .



شكل ٧٨ : طريقة الطبق المتدرج Gradient plate technique. لاختبار تأثير المواد الكيماوية على نمو البكتيريا ولغرض عزل طفرات مقاومة للتركيزات المرتفعة منها
(أ) طبق به بيئة غذائية محتوية على تركيز مرتفع من المادة الكيماوية السامة ويترك ليتصلب فى وضع مائل .
(ب) نفس الطبق بعد صب كمية مساوية من البيئة الخالية من المادة الكيماوية والذى يترك ليتصلب فى وضع أفقى .

وعموما فان الطرق التى تستعمل فيها البيئات الصلبة لا يمكن عن طريقها التمييز بين التأثير المميت والتأثير الموقف للنمو . اللهم الا إذا حاولنا أخذ لقاح من سطح الآجار فى المناطق الخالية من النمو والمجاورة لتأثير المادة الكيماوية وزرع هذا اللقاح فى بيئة خالية من المادة الكيماوية السامة . وبالرغم من هذا فهى طرق مفيدة جداً لتقدير كفاءة المواد الكيماوية العلاجية الموقفة لنمو البكتيريات ، حيث يفضل استعمالها فى مقاومة البكتيريات الممرضة بداخل جسم المصاب ، ويترك لطرق الجسم الدفاعية مسئولية التخلص من البكتيريات المتوقفة عن النمو والتكاثر نتجه لفعل المادة الكيماوية المستعملة فى العلاج الداخلى إلا أن بعض المواد السامة لا تؤدى فعلها الضار للبكتيريات المتوقفة عن النمو بل تؤثر فقط على البكتيريات النشطة والمنقسمة مثل المضاد الحيوى penicillin وأن مثل هذا التأثير لا يمكن ملاحظته إلا إذا كانت المادة الكيماوية على اتصال وثيق بالخلايا .

ويمكن بسهولة تقدير عدد الخلايا الناجية بعد المعاملة الكيماوية أو تقدير عدد الخلايا التى تموت أثناء وحدة زمنية من التعرض للمادة الكيماوية. وشكل ٧٩



شكل ٧٩ : معدل موت جراثيم البكتيريا *Bacillus anthracis* فى محلول ٠,٠٥٪ كلوريد زئبق ا — منحنى النسبة المئوية لأعداد الخلايا الناجية . ب — منحنى للوغاريتمات اعداد الخلايا الناجية (لاحظ ان المنحنى يظهر كخط مستقيم)

يبين المنحنى عندما يجرى باستعمال الاعداد الفعلية للخلايا الناجية بالمقارنة بالمنحنى المقدر على أساس القيم اللوغاريتمية لهذه الأعداد. ويلاحظ أنه فى الحالة الأخيرة يمكن الحصول على خط مستقيم straight line function مبينا أن معدل الموت أو النجاة يكون مطردا بزيادة وقت التعرض للمادة الكيماوية أو بمعنى آخر أن نسبة الخلايا الميتة تظل ثابتة على فترات الفحص المختلفة.

وهذا النظام اللوغاريتمى للموت نتيجة لفعل المواد السامة يمكن التعبير عنه حسابيا بالمعادلة الآتية والتى على أساسها يمكن تقدير قيمة ثابتة لكل مادة كيماوية ولكل نوع بكتيرى تعرف بمعدل الموت يمكن عن طريقه المقارنة بين تأثير المواد الكيماوية المختلفة.

$$ك = \frac{١}{ت} لو \frac{س}{ص}$$

حيث ك = معدل الموت للمادة الكيماوية السامة لنوع بكتيرى معين.

ت = الوقت المحصور بين التلقيح وأخذ العينة.

س = عدد الخلايا وقت التلقيح.

ص = عدد الخلايا الناجية بعد مرور الوقت (ت).

ويمكن أيضا إجراء المقارنة بين تأثير المواد الكيماوية المختلفة على أساس تقدير معامل آخر يسمى بمعامل الفينول Phenol constant . ويحسب معامل الفينول بمعرفة النسبة بين تركيز المادة الكيماوية السامة إلى تركيز مادة كيماوية قياسية أخرى كالفينول الذى يبيد نوعا بكتيريا معينا خلال فترة معينة. الا أن هذا التقدير له عيوب عديدة منها أنه لا يعطى فكرة عن تأثير التركيزات المنخفضة من المادة الكيماوية على فترات أطول من التعريض كما أنه لا يبين حساسية البكتيريات الأخرى للمادة الكيماوية غير تلك التى تستعمل فى تقديره.

وموت الخلايا البكتيرية ليس القياس الوحيد لدرجة سمية المادة الكيماوية إذ أن الموت هو النتيجة النهائية للتسمم الخلوى عندما تتوقف عملية الأنقسام بصفة دائمة . وهناك أعراض أخرى غير الموت قد تظهر على الخلاياالبكتيرية نتيجةلتسممها بالمواد الكيماويةمنها ، ١ — توقف النموالتكاثر مؤقتا bacteriostasis ، ٢ — اعطاء نمو غير طبيعى كما يحدث عندما تتواجد الخلايا البكتيرية فى بيئة تحتوى على تركيزات أقل من المميتة sublethal من المضادات الحيوية ، حيث يختل الانقسام وتستمر الخلايا فى نموها بدون انقسام لتظهر بشكل خيوط تشبه (المكرونة) Spaghetti - like . كما فى حالة البكتيريا *Proteus vulgaris, E. coli* ، عندما تنمو فى وجود تركيزات معينة من البنسلين . ٣ — تفقد الخلايا الموجبة لصبغة جرام ايجابيتها لهذه الصبغة عندما تتواجد فى تركيزات أقل من تلك المميتة لها من البنسلين Penicillin .

وموت الخلايا أو تأثر نموها عندما تتواجد فى بيئة تحتوى على الموادالسامة لا تفسر ما يحدث بداخل الخلية وما يؤدى إلى منع النمو أو ظهور الخلايا بالصور السابق وصفها .

من المعروف أن النشاط الخلوى يعتمد اعتماداً كلياً على التفاعلات الحيوية المرتبطة ببعضها البعض والتى تتم عن طريق الانزيمات الخلوية ، فلو توقف أحد هذه التفاعلات فبالتالى يتوقف النمو . والمادة الكيماوية قد تكون على درجة عالية من التخصص بحيث يمكنها إيقاف خطوة واحدة من خطوات أحد التفاعلات الحيوية بالخلية أو أن تكون أقل تخصصاً عندما تتمكن من احباط عديد من التفاعلات فى وقت واحد ، وتقدر كفاءة المادة الكيماوية السامة تبعا لصفاتها الكيماوية ولقدرتها على التفاعل مع المجاميع الفعالة للمكونات البروتوبلازمية .

وهناك ثلاث مناطق خلوية حساسة يمكن للمواد الكيماوية السامة أن تؤثر

عليها وهي : الغشاء السيتوبلازمى، السيتوبلازم، الأجسام الكروماتينية (النواه) . وسوف نناقش فيمايلى بقدر الإمكان ما يمكن أن تفعله المواد السامة بكل من هذه المناطق.

أولا — الغشاء السيتوبلازمى :

يتركب الغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا من بروتينات دهنية lipoprotein ، وهو أول حاجز يقابل المادة الكيماوية بعد اجتيازها الجدار الخلوى ؛ وقد يكون الغشاء السيتوبلازمى غير منفذ للمادة الكيماوية المختبرة ولذا فلا يمكنها أن تؤثر على الخلية مهما كان لها من تأثير ضار على باقى أجزاء الخلية الداخلية . وباختبار التأثير السام لعدد كبير من المواد الكيماوية وجد أن غالبتها غير فعالة لسبب واحد هو عدم قدرتها على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى . وتطرق جزيئات المادة الكيماوية خلال الغشاء السيتوبلازمى يتوقف على العوامل الآتية :

(ا) درجة تأين المادة : من الناحية النظرية إذا افترضنا أن المواد تدخل عن طريق الانتشار البسيط يمكننا أن نتوقع إذن أن الجزيئات المتعادلة يمكنها المرور خلال الغشاء السيتوبلازمى بدرجة أكبر من الأيونات ذات الشحنات الكهربية المختلفة .

(ب) قيمة pH البيئة : إن قيمة pH البيئة لا تؤثر فقط على درجة تأين المادة الكيماوية السامة بل تؤثر أيضاً على درجة تأين المواضع الخلوية المستقبلة لها والتى يمكن للمادة الكيماوية التفاعل معها .

واحيانا قد لا يكون من الضرورى دخول المادة الكيماوية خلال الغشاء السيتوبلازمى لتحدث فعلها السام . فقد يمكنها أن تحدث تأثيرها بالتدخل فى وظيفة الغشاء الخلوى نفسه وتجعله يفقد نفاذيته الإختيارية أو بمعنى آخر فان المادة الكيماوية تؤثر على الغشاء السيتوبلازمى وتجعله غشاء منفذاً لكل شيء . ومن أمثلة هذه المواد تلك المواد المذيبة للدهون مثل الكلوروفورم والأسيتون

والأثير والتى يمكنها إفساد نفاذية الغشاء السيتوبلازمى الإختيارية نتيجة لأستخلاص محتوياته الدهنية . ، ويمكن أيضاً إفساد خواص الغشاءالسيتوبلازمى باضافة المواد ذات القدرة على خفض التوتر السطحى للسوائل surface tension depressants مثل أملاح الصفراء bile salts أو الصابون detergnets وهذه المواد علاوة على تأثيرها فى تقليل التوتر السطحى لطبقة البيئة المجاورة للغشاء إلا أن لها تأثيرات أخرى على محتويات الغشاء السيتوبلازمى الأنزيمية كما سنبين فيما بعد .

وتدخل المواد الكيماوية فى وظيفة الغشاء السيتوبلازمى قد أمكن ايضاحه أيضاً عن طريق دراسة الفعل السام للمضاد الحيوى بنسلين . وهذا المضاد الحيوى يوقف نمو البكتيريات الموجبة لصبغة جرام بتدخله فى العمليات التى من شأنها حصول هذه البكتيريات على حمض الجلوتاميك من البيئة ، حيث أنها عاجزة تماماً عن تجهيزه بنفسها ، وكما سبق أن بينا فان دخول هذاالحمض الأمينى ليس عملية إنتشار بسيط ولكنها عملية تتطلب طاقة energy-requiring transport mechanism فالبنسلين فى هذه الحالة يرتبط بطريقة غير عكسية مع مكونات الغشاء الخلوى المسئولة عن تجهيز الانزيمات الخاصة بدخول حمض الجلوتاميك . ولكنه لا يتدخل فى عمليات تمثيل هذا الحمض داخل الخلية .

ثانيا — السيتوبلازم :

إذا تمكنت المادة الكيماوية من المرور خلال الغشاء السيتوبلازمى فأنها ستؤثر على السيتوبلازم باحدى طريقتين :

١ — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمى .

٢ — تعطيل بعض التفاعلات الأيضية المعينة .

١ — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمى :

يؤدى تفاعل المادة الكيماوية مع البروتين السيتوبلازمى إلى تأثيرات متباينة منها :

(ا) تمزيق القوى الرابطة bonding forces والتى تحفظ للبروتين السيتوبلازمى حالته الغروية المنتظمة ونتيجة لذلك يحدث تخثر coagulation أو ترسيب precipitation للسيتوبلازم . ومن المواد الكيماوية التى تحدث هذا التأثير المواد المجففة dehydrating agents مثل الأسيتون والكحولات أو التركيزات المرتفعة من الأملاح مثل ملح الطعام وسلفات الأمنيوم وغيرها وهذه العملية لا تؤدى إلى إحباط النشاط الانزيمى . بل تفسد أيضا كل التفاعلات الحيوية التى من شأنها حفظ حياة الخلية .

(ب) تؤدى المادة الكيماوية تأثيرها السام عن طريق تفاعلها أو ارتباطها المباشر direct combination أونتيجة لتغيرها alternation للمجاميع الفعالة الموجودة على جزيئات البروتين الأنزيمى .

وقد يحدث الارتباط بين المادة الكيماوية والمجاميع الفعالة التى توجد عادة على جزيئات البروتين الأنزيمى كما يحدث فى حالة مركبات الزئبق أو الزرنيخ التى ترتبط بمجاميع السلفاهيدريل الفعالة . أو يتم الارتباط بالمجاميع الفعالة القاعدية مثل الأمين أو مجاميع إميدازول imidazole groups . كما يحدث فى حالة الفورمالدهيد . والصابون الأنيونى ، والصبغات الحمضية . أو يتم الارتباط بين المادة الكيماوية والمجاميع الفعالة الحمضية مثل مجاميع الكربوكسيل ومجاميع الهيدروكسيل أو بقايا حمض الفوسفوريك ، كما يحدث فى حالة المركبات المعروفة باسم quaternary ammonium compounds أو الصابون الكاتيونى ، أو الصبغات القاعدية .

هذا وقوة الرابطة الناتجة بين المادة الكيماوية والمجموعة الفعالة من البروتين الأنزيمى تحدد كثيرا من طبيعة التأثير السام للمادة الكيماوية وعلى أساس قوة الارتباط يكون تأثير المادة تأثيرا دائما أو تأثيرا مؤقتا ، فمثلا عندما ترتبط أيونات الزئبق مع البروتين الانزيمى لبعض الكائنات عن طريق مجاميع السلفاهيدريل يتم هذا الارتباط بطريقة ضعيفة تسمح فيما بعد بانعكاس التفاعل ، بمعنى أن تنفصل أيونات الزئبق مرة ثانية عن جزيئات البروتين الانزيمى عندما تبتعد الخلايا عن مسرح المادة الكيماوية أو عند إضافة مادة غنية بمجاميع السلفاهيدريل مثل الجلوتاثيون glutathione أو مادة ٢ ، ٣ داى ميركابتو بروبانول 2,3 dimercaptopropanol ، من ذلك نرى أن تأثير أيونات الزئبق فى هذه الحالة مؤقتا وليس دائما .

ويرجع التأثير الموقف للنمو البكتيرى لبعض الصبغات إلى تكون روابط ملحية ضعيفة مع البروتين الأنزيمى وهذه الروابط تتأين فيما بعد تاركة البروتين الأنزيمى كما كان من قبل .

ومن الناحية الأخرى نجد أن التأثير الدائم للمواد المبيدة bac tericidal agents يحدث نتيجة للتغيرات غير العكسية التى تتم للبروتين الأنزيمى ، أو نتيجة لتكوين روابط قوية يصعب كسرها أو الرجوع فيها تحت الظروف الفسيولوجية .

وارتباط المادة الكيماوية السامة بالبروتين الانزيمى بالخلية يتوقف على عدة عوامل أهمها :—

١ — دخول المادة الكيماوية داخل الخلية .

٢ — تنشيط الجزيئات المستقبلة حتى يمكنها أن ترتبط مع المادة الكيماوية وهذا يمكن توضيحه من تأثير قيمة pH البيئة على التأثير السام لبعض المركبات كالصابون أو الأصباغ على خلايا البكتيريا . فالصابون الكاتيونى والصبغات

القاعدية تكون ذات تأثير أكثر سمية للبكتيريات فى المجال القلوى من درجات الـ pH أو بمعنى آخر عندما تكون تحت ظروف تقلل من درجة تأينها وتزيد من كمية جزيئاتها المتعادلة فى البيئة ، وهذه لها قدرة أكبر على اختراق الغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا من قبل ، وتحت نفس الظروف (pH مرتفع) يزداد أيضا تأين المجاميع الحمضية الفعالة والتى تتواجد على جزيئات البروتين الأنزيمى مما يزيد الفرصة فى حدوث الارتباط . والعكس صحيح فيما يختص بالمواد الكيماوية الحمضية والتى تتفاعل أو ترتبط بالمجاميع القاعدية الفعالة من البروتين الأنزيمى ، حيث يزداد فعلها السام على الدرجات المنخفضة من الـ pH . ويجب أن نعلم أن الارتباط بين المواد الكيماوية السامة والبروتين الخلوى ليس مقصوراً على البروتين الخلوى الداخلى فقط ، بل يمكنه أيضاً أن يحدث للبروتينات المكونة للغشاء السيتوبلازمى ، وينتج عن هذا الارتباط تثبيط لفعل الانزيمات الخلوية بهذه المنطقة من الخلية . فبعض البروتينات الأنزيمية يتوقف نشاطها نتيجة لأرتباط المادة السامة مع مجاميعها الأمينية والبعض الآخر يتوقف نشاطها لأرتباط مجاميعها الهيدروكسيلية أو السلفاهيدريلية بالمادةالكيماويةالسامة. من ذلك نجد أن وجود مادة كيماوية واحدة قد تعمل على إيقاف نشاط عديد من الانزيمات ذات الوظائف المختلفة ، ولما كانت مثل هذه المواد الكيماويةغير متخصصة فى فعلها السام ، لذا فانها لا تستعمل داخلياً فى علاج الأمراض الميكروبية ، حيث أنها قد تتحد أيضاً مع بروتينات خلايا العائل مؤدية إلى حدوث أعراض تسممية بجسمه ، إلا أنه يمكن استعمال بعض هذه المواد خارجيا لتطهير سطح العائل ، ويشترط معها ألا تصل إلى أنسجته الداخلية ، كما أن منها ما يستعمل فى تعقيم عوامل نقل الأمراض المعدية ، مثل المياه ،أو أدوات وأوعية الطعام ويجب أن نلاحظ أن الكفاءة التعقيمية لهذه المواد تتأثر كثيراً بدرجة وجود المواد العضوية بالمياه أو الأدوات المراد تعقيمها .

ومن أمثلة هذه المواد التى تستعمل لعلاج الأمراض السطحية أو فى التعقيم

السطحى لعوامل نقل الأمراض ما يلى :

الفينول ومركباته : ويستعمل منه محلول مائى ٢ — ٥٪ لتعقيم الأدوات ، والأجهزة وسطح المناضد والأرضيات ، ويلاحظ أن الجراثيم البكتيرية ، والفيروسات تقاوم تأثيره بدرجة واضحة ، ويتم الفعل السام للفينول على الخلايا الخضرية عن طريق إفساد أو هرجلة (denaturation) ، البروتين الخلوى والغشاء السيتوبلازمى .

الكحولات : يعتبر كحول الايثايل بتركيز ٥٠ — ٧٠٪ أكثر الكحولات استعمالا فى أغراض التطهير الخارجى إلا أنه لا يمكن الاعتماد عليه فى عمليات التعقيم حيث أن تركيزاته التى تؤثر على الخلايا الخضرية لا تؤثر على الجراثيم البكتيرية . هذا والكحولات الأخرى مثل كحول الميثايل يعتبر أقل كفاءة من كحول الإيثايل فى قدرته التعقيمية ، إلا أن كلا من كحول البروبايل ، وكحول البيوتايل ، يعتبران أقوى كثيرا فى قدرتها التعقيمية عن كحول الإيثايل إلا أنها لا تستعملان فى هذا الصدد .

وتؤدى الكحولات عموما فعلها السام نتيجة لتجميعها للبروتين الخلوى وكذا لتأثيرها التجفيفى على الخلايا dehydrating effect .

اليود : محلوله فى الكحول أو فى محلول مائى من يوديد البوتاسيوم يستعمل بكثرة فى معالجة الجروح والخدوش للوقاية من التلوثات السطحية فى جسم الانسان والحيوان ، وله تأثير مبيد غير متخصص على عدد كبير من البكتيريات كما ويقال أن له تأثيرا مبيدا للجراثيم البكتيرية أيضاً ، علاوة على تأثيره الضار للفطريات fungicidal والفيروسات virucidal لحد ما . واليود يؤدى فعله السام باتحاده وارتباطه غير التخصصى بالبروتين الخلوى لذلك فهو ذو تأثير مبيد . ويحضر محلوله المائى المستعمل فى علاج الجروح من (٥٪ يود فى محلول ١٠٪ يوديد بوتاسيوم) ، ومحلوله الكحولى (٧٪ يود فى محلول ٥٪ يوديد البوتاسيوم فى ٨٣٪ كحول إيثايل) .

الكلور ومركباته : الكلور الغازى أو مركبات الكلور التى ينطلق منها الكلور فى صورة غاز يعتبر من أهم المطهرات الكيماوية ويستعمل الكلور الغازى المضغوط فى تعقيم مصادر المياه المختلفة ، إلا أنه يصعب استعماله على هذا النحو إلا إذا توفرت الأجهزة الخاصة بهذا الاجراء والتى تتوفر فقط فى شركات المياه الكبيرة .

وفيما يلى بعض مركبات من الكلور التى يمكن إستعمالها بطرق أكثر سهولة من الكلور الغازى نفسه وهى تؤدى نفس التأثير السام :—

١ — الهيبوكلوريتات Hypochlorites ، ويستعمل منها مركب هيبوكلوريت الكالسيوم أو الجير المعامل بكلور chlorinated lime بكثرة لهذا الغرض ، وهى تتوفر على صورة سائل أو مسحوق بتركيزات مختلفة والمركبات التى تحتوى على ٥—٧٠٪ هيبو كلوريت الكالسيوم ، تستعمل فى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان . ويمكن استعمال محلول ١٪ من هيبو كلوريت الكالسيوم فى التطهيرات المنزلية ، أما التركيزات المرتفعة من هذه المادة (٥—١٢٪) فهى تستعمل كمحاليل مزيلة للألوان beleacher وكمحاليل مطهرة قوية تخفف وتستعمل بالمنازل أو بمعامل الألبان أو مصانع المياه الغازية أو حفظ الأغذية .

٢ — الكلورامينات Chloramines ، وهى تحضر باحلال ذرة أو ذرتين من الكلور محل ذرة أو أثنتين من الأيدروجين فى مجاميع الأمين بالمركبات المحتوية على هذه المجاميع الأمينية . وأبسط هذه المركبات المادة مونوكلورامين monochloramine (ن يد٢ كل) . وهناك مركب آخر هو chloramine T. ذو تركيب أكثر تعقيداً وهو P-toluene sulfonchloramide ويستعمل بكثرة كمطهر قوى فى عديد من الأغراض ، ومن المميزات الهامة لهذه الكلورامينات أنها أكثر ثباتاً من الهيبو كلوريتات لذلك فهى تزيد فترة التعقيم .

والفعل التعقيمى للكلور ومركباته يرجع إلى تكوين حمض hypochlorous acid والذى يتكون عند إضافة الكلور إلى الماء كما يلى :


كل٢ + يد٢ا ← يد كل + يد كل ا .

وبالمثل يمكن لمركبات الهيبوكلوريت والكلورامينات أن تتحلل مائياً مكونة نفس الحمض السابق ذكره (يد كل ا) مع انطلاق الأكسوجين الذى يعمل كعامل مؤكسد قوى ، ونتيجة لهذه الأكسدة القوية تتأثر الأحياءالدقيقة وتموت ، وعلاوة على ذلك فان الفعل السام للكلور ومركباته قد يرجع أيضاً إلى اتحاده وارتباطه بالبروتينات الخلوية .

فوق أكسيد الأيدروجين : يستعمل كمادة مطهرة خارجيا وذلك نتيجة لأكسدته للبروتينات الخلوية نتيجة للذرات الأكسوجينية المنطلقة منه كما أنه يعمل على تسمم البكتيريات غير الهوائية التى قد تتواجد مكونة لكثير من الحالات التى يمكنها أن توفر وسطا غير هوائى .

المعادن الثقيلة ومركباتها : معظم المعادن الثقيلة أو مركباتها تكون ذات تأثير سام على الكائنات الحية الدقيقة ، وأكثر هذه المعادن تأثيرا فى هذا الصدد الزئبق ، والفضة والنحاس .

ويعرف الفعل السام للتركيزات المنخفضة من بعض المعادن وبخاصة الفضة بالفعل الأوليجوديناميكى oligodynamic action واشتقت التسميةمن اللفظين اليونانيين oligo بمعنى صغيرة dynamis بمعنى تأثير وقوة (أى قوة وتأثير التركيزات الصغيرة) . ويمكن ابراز هذه الظاهرة عند وضع قطعة من المعدن (عملة فضية أو نحاسية) على سطح أجار ملقح بطبق بترى يترك فترة حضانة مناسبة فتظهر منطقة خالية من النمو حول قطعة المعدن . وكمية المعدن التى تؤدى إلى منع النمو حول العملة تعتبر صغيرة جداً تقدر بأجزاء بسيطة لكل مليون جزء من البيئة ، ويرجع فعل المعادن فى ايقاف النمو إلى ارتباط

ايوناتها بالبروتينات الخلوية كما سبق أن بينا ، وبهذه الطريقة أمكن التعرف على المعادن ذات التأثير السام القوى واستعمال محاليل أملاحها فى أغراض التعقيم والتطهير المختلفة منها معاملة مصادر المياه ، أو تجهيز الأربطة أو الدهانات المعقمة .

وهناك بعض مركبات للمعادن الثقيلة يمكن استعمالها كمطهرات أو معقمات وأهمها مركبات الزئبق غير العضوية مثل : كلوريد الزئبقيك mercuric chloride ، وكلوريد الزئبقوز mercurous chloride ، والزئبق المعامل بالأمونيا ammoniated mercury . وتوجد مطهرات زئبقية عضوية مثل مركب ميركيركروم mercurochrome و metaphen و merthiolate و mercresin وكذلك مركبات الفضة والتى تستعمل منها نترات الفضة ، أو لكتات الفضة Silver lactate ، أو بيكرات الفضة Silver picrate . ومركبات النحاس والتى تستعمل منها كبريتات النحاس فقط .

وأملاح المعادن الثقيلة عموما ، قد تعمل على قتل الخلايا نتيجة لأرتباطها مع البروتين الخلوى علاوة على قدرتها الترسيبية له عندما توجد فى تركيزات مرتفعة نسبياً . والتأثير السام للتركيزات المنخفضة من هذه الأملاح قد بين أنها تدخل فى العمليات الأنزيمية بطريقة معينة تختلف عن الطرق السابقة ولكنها لازالت غير معروفة .

الصبغات : Dyes : إذا زرعت بكتيريا غير متعرف عليها على بيئة آجار مناسبة تحتوى على ١٠-٥ من صبغة الكريستال البنفسجى ، فان حدوث نمو على سطح هذه البيئة يعنى أن البكتيريا النامية سالبة لصبغة جرام ، حيث أن هذه الصبغة تمنع نمو البكتيريات الموجبة لصبغة جرام دون أن تؤثر على تلك السالبة لهذه الصبغة ، هذا وتشذ البكتيريات المقاومة للأحماض عن هذه القاعدة حيث أنها لا تقاوم التأثير السام لهذه الصبغة . وهناك صبغات أخرى

مثل صبغة الأخضر الزاهى Brilliant green وأخضر المالاكيت يمكنها أن تمنع نمو البكتيريات الموجبة لصبغة جرام دون السالبة لهذه الصبغة .

وقد استغلت هذه الحقائق عملياً فى الدراسات البكتيريولوجية فى ايجاد بيئات إنتخابية selective ، حيث يمكن إضافة بعض الأصباغ إلىالبيئات الغذائية لمنع نمو بعض المجاميع البكتيرية .

وتستعمل هذه الطريقة فى البكتيريولوجيا الطبية فى أعمال الصحة العامة حيث أن التعرف على بكتيريا القولون يكون لها أهمية خاصة فى هذه الدراسات فتنتخب أصباغ لها القدرة على منع نمو البكتيريات الموجبة لصبغة جرام دون التأثير على الأنواع السالبة لهذه الصبغة .

هذا والتأثير السام للأصباغ قد يؤدى علاوة على التفرقة بين البكتيريات الموجبة والسالبة لجرام إلى تميز درجة حساسية الأنواع البكتيرية المختلفة لهذه الأصباغ ، وقد ساعد هذا كثيرا فى عمليات التعرف على البكتيريات المجهولة ، فمثلا صبغة أخضر الملاكيت يمكنها أن تمنع نمو البكتيريا *Staph. aureus* . دون البكتيريا *E. coli* عندما تتواجد بالبيئة بتركيز ١٠-٧ أما إذا زاد تركيزها إلى ١ : ٣٠,٠٠٠ فان ذلك يمنع أيضا نمو البكتيريا الأخيرة .

والأصباغ قد تستعمل إلى حد ما كمواد مطهرة ، فمثلاصبغاتالأكريدين acridine dyes مثل (Acriflavine) يمكنها أن تمنع نمو عدد كبير من البكتيريات وخاصة الموجبة لصبغة جرام .

لذلك فهى تستعمل فى تطهير الجروح والأغشية المخاطية وفى بعض العمليات التطهيرية الأخرى ، وصبغة الكريستال البنفسجى تستعمل ظاهريا أحيانا فى علاج الاصابات الجلدية الناتجة عن بعض البكتيريات الموجبة لصبغة جرام ، وكذا الناتجة عن بعض الفطريات .

وطريقة فعل الأصباغ فى منع نمو الكائنات الحية الدقيقة يرجع إلى إرتباطها مع المجاميع الفعالة الحمضية أو القلوية (حسب نوع الصبغة) من البروتين الخلوى .

الصابون والمركبات الخافظة للتوتر السطحي Soaps & synthetic detergents

يطلق اسم detergents عادة على المواد التى تقلل من التوتر السطحى للسوائل أو المواد المبللة والتى منها الصابون بمختلف أنواعه .

والصابون عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم للأحماض الدهنية ، وهى تعتبر فى مجموعها مطهرات متوسطة القوة ، وذات قدرة اختيارية فى التأثير على البكتيريات . فمثلا البكتيريا Streptococci و Pneumococci تعتبر أكثر حساسية نسبياً لفعل الصابون عن Staphylococci والبكتيريات السالبة لصبغة جرام والبكتيريات الموجبة للصبغ المقاوم للأحماض ، والأهمية القصوى فى استعمال الصابون تتمثل فى الازالة الميكانيكية للبكتيريات عن الاجسام التى تعامل بها مثل الأيدى والملابس وغيرها ، كما أنه يقلل من التوتر السطحى للماء ويجعله أقدر على التغلغل والالتصاق بالأشياء المغسولة به . هذا علاوة على قدرة الصابون على استحلاب وإذابة الزيوت والشحوم والمواد الملوثة الأخرى . وقد يضاف عديد من المواد الكيماوية عند تصنيع الصابون لتزيد من قدرته التعقيمية مثل مادة الفينول وحمض البوريك وبعض المواد المطهرة الأخرى .

وقد قادت الرغبة فى انتاج أنواع محسنة من الصابون إلى إنتاج مواد كيميائية تركيبية تعرف بالـ synthetic detergents والكثير منها أكثر كفاءة من الوجهة التنظيفية والتعقيمية من الصابون العادى ، وتستعمل هذه المواد فى أغراض الغسيل الميكانيكى للملابس والأدوات المنزلية ، وفى مستحضرات غسيل الشعر shampoos وغيرها . وعلاوة على التأثير المطهر لهذه المواد إلا أن لها تأثيرا مميتا لكثير من البكتيريات ومن أمثلة هذه المواد :

١ — تلك التى تتأين ويظل فعلها المطهر فى الأنيونات anions الناتجة وتعرف بالصابون الأنيونى anionic detergents مثل مركب سلفات لوريل الصوديوم sodium lauryl sulfate

٢ — تلك التى تتأين ويظل فعلها المطهر فى الكاتيونات الناتجة cations وتعرف بالصابون الكاتيونى cationic detergents مثل مركب كلوريد السيتل بريدينم cetylpridenum chloride وهى أكثر تأثيرا من ناحية إبادة الميكروبات عن النوع الأول .

٣ — والنوع الثالث غير متأين ويعرف nonionic detergents وليس له أى تأثير مبيد أو مطهر للميكروبات .

مركبات الأمنيوم الكواتيرنارية : Quaternary ammonium componnds :

تدرج معظم مركبات الصابون الكاتيونى ذات التأثير المبيدللميكروبات ضمن هذه المجموعة من المركبات ، ومن أمثلتها كلوريد السيتيل بريديسنم Cetyl pridenum chloide الذى يعرف باسم Ceepryn كما أن هناك مركبات أخرى تعرف باسم زيفيران Zephiran وفيمسيرول Phemerol وكثير غيرها تباع بالأسواق تحت أسماء تجارية مختلفةلأغراض التطهير السطحى .

والتأثير المبيد لهذه المركبات يشمل كلا من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وتتراوح التركيزات المبيدة منها بين ١,٠٪ — ٠١,٪ ، والتركيزات الموقفة لنموالبكتيريات منها تكون منخفضة جداًبالمقارنةبالتركيزات المبيدة ، وعلاوة على تأثيرها المبيد للبكتيريات ، فلهاأيضاً تأثيرامبيداًللفطريات ، وبعض البروتوزوات . إلا أن الفيروسات أكثر مقاومة لتأثيرها عن الكائنات الحية الدقيقة الأخرى .

ونظرا لما تتميز به هذه المواد من صفات مبيدة للبكتيريات ولثبات فاعليتها لفترات طويلة نسبيا . علاوة على تأثيرها المنظف ، وعدم تأثيرها على المعادن ، فهى تستعمل بكثرة فى أغراض التطهير والتعقيم فى مصانع الأغذية والمشروبات الغازية والألبان .

وكما سبق أن بينا أن الفعل المبيد لهذه المركبات يرجع إلى إتحادها مع البروتين الخلوى مؤدية إلى إيقاف النشاط الأنزيمى للخلايا ، علاوة على قدرتها على هرجلة البروتين الخلوى مؤدية إلى فساد الغشاء السيتوبلازمى وخروج محتويات الخلية cytolysis خارجه .

الفورمالدهيد : الفورمالدهيد عبارة عن غاز يكون ثابتاً فقط عندما يوجد فى تركيزات مرتفعة أو على درجات مرتفعة من الحرارة . إلا أنه يتحول إلى مادة صلبة على درجات الحرارة العادية (حرارة الغرفة) . وأهم صورة لهذا الغاز هى البارافور مالدهيد paraformaldhyde . وهذه عبارة عن مادة صلبة عديمة اللون . ينطلق منها غاز الفورمالدهيد عندما ترفع حرارتها . وغاز الفورمالدهيد يمكن الحصول عليه فى صورة محلول مائى يعرف باسم الفورمالين وهو يحتوى على ٣٧—٤٠٪ فورمالدهيد .

والفورمالين والبارافورمالدهيد هما المصدرين الرئيسيين لغاز الفورمالدهيد اللازم فى الأغراض التعقيمية أو التطهيرية المختلفة . فاذا ما رفعت درجة حرارة أى من المركبين فى مكان مغلق لفترة كافية ، ينطلق غاز الفورمالدهيد الذى يطهر المكان . ومن ناحية تأثيره المبيد للبكتيريا فقد وجد أن غاز الفورمالدهيد يؤثر على الخلايا الخضرية بدرجة أكبر منها على الجراثيم .

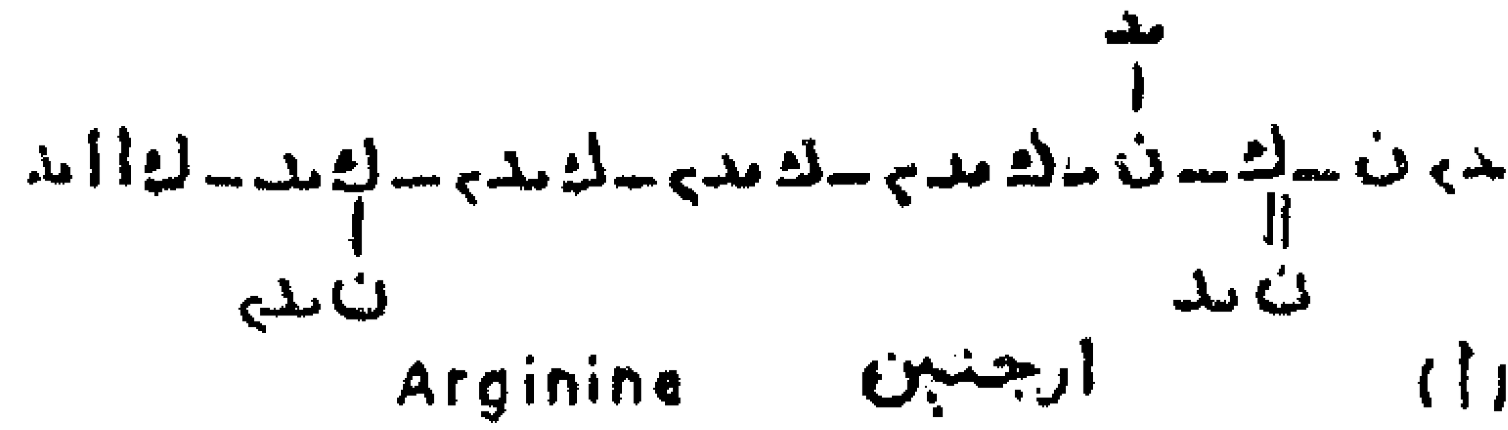
٢ - تأثير المواد الكيماوية نتيجة تعطيلها لعمليات أيضية معينة

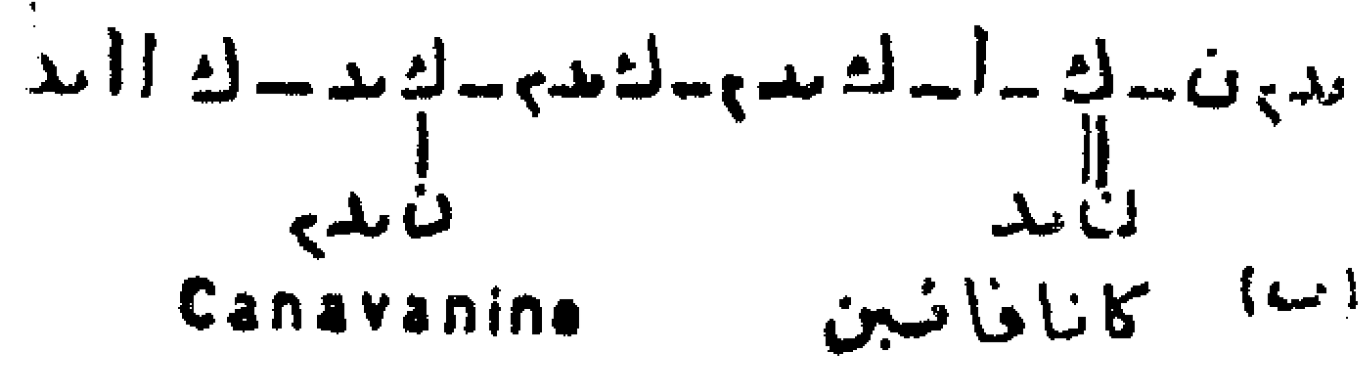
Effect of chemicals through blocking specific metabolic reactions

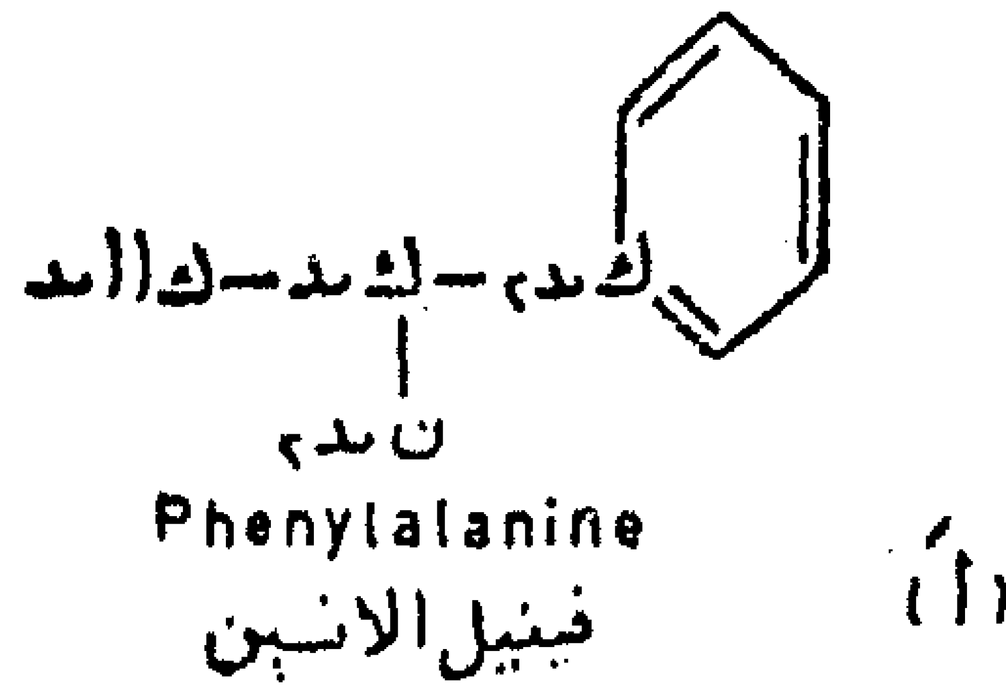
قد تتوقف الخلية البكتيرية عن النمو بصفة دائمة أو مؤقتة إذا ما تدخلت المادة الكيماوية فى التفاعلات الأيضية مؤدية إلى تعطيلها بطريقة غير عكسية ، وقد تكون التفاعلات التى تعطل مسئولة عن تخليق مادة أو مواد أيضية هامة للنمو وهذه المواد الأيضية الهامة تعرف باسم essential metaboliite (s) ونتيجة لغياب هذه المواد تتوقف الخلية كلية عن النمو . والمواد الكيماوية التى تحدث مثل هذا التأثير تعرف بالمواد المضادة لتكوين المواد الأيضية antimetabolites وهى غالباً تكون ذات تركيب كيماوى متشابه إلى حد ما مع المركبات الأيضية الهامة بالخلية وبذلك يمكنها أن تدمص على البروتين الأنزيمى، تماما كمادة تفاعل الأنزيم ونظراً لعدم تطابقها فى التركيب الكيماوى فـأن إدمصاصها على البروتين الانزيمى يمنع سير التفاعل بطريقته المعتادة .

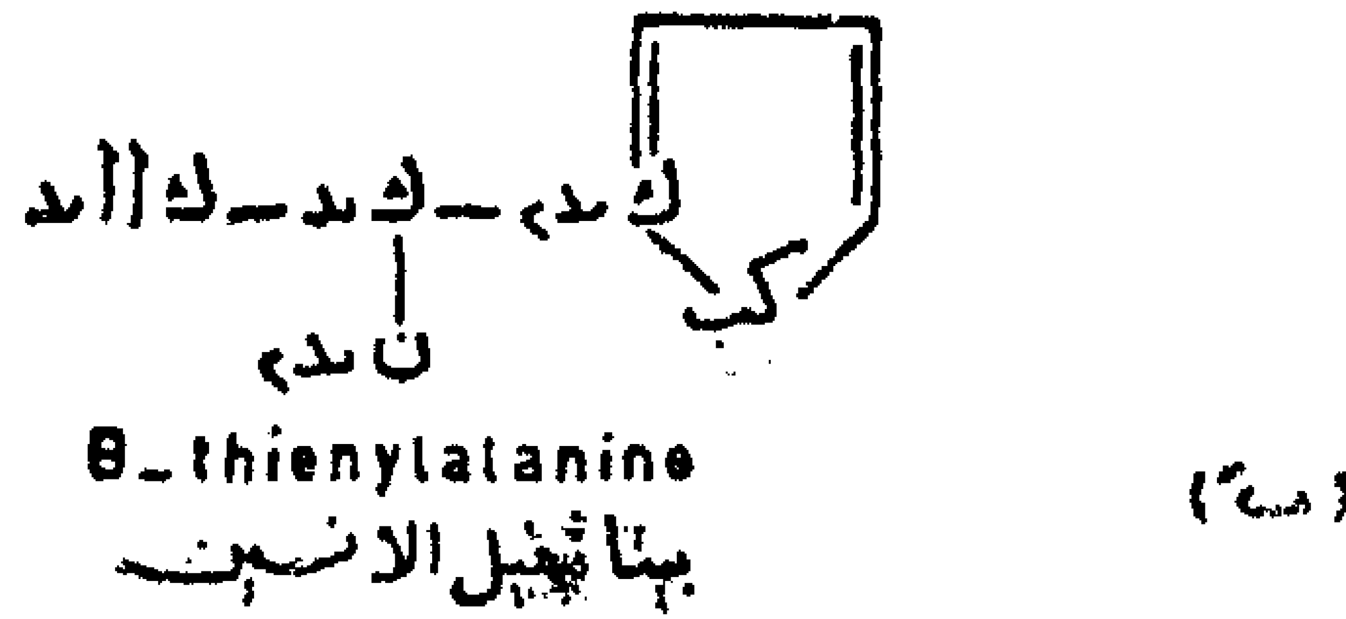
وقد جربت عدة مواد متشابهة فى التركيب مع عديد من المواد الايضية الهامة ولكن ثبت عدم كفاءة غالبيتها وذلك لعدم قدرة بعضها على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى أو لعدم كفاية التشابه بينها وبين مادة تفاعل الانـزيم المسئول بدرجة تسمح بأدمصاصها على سطح البروتين الأنزيمى . ويبين شكل ٨٠ بعض المواد الايضية ومشابهاتها من المواد الكيماوية .

هذا والمواد الكيماوية التى تمنع تكوين المواد الأيضية الهامة بالخلية تعتبر فقط مواد موقفة للنمو أى أنها توقف نمو البكتيريا بصفة مؤقتة عندما تتواجد بتركيزات ضئيلة . ويحدث ذلك غالبا نتيجة للتنافس الذى يتم بين المـادة الكيماوية ومادة التفاعل الانزيم المسئول ، على سطح البروتين الانزيمى . فاذا أضيف مادة تفاعل أو ناتج تفاعل الانزيم بتركيز عال فـان ذلك يقلل من أو يلغى التأثير الضار للمادة الكيماوية السامة حيث أن ذلك سوف





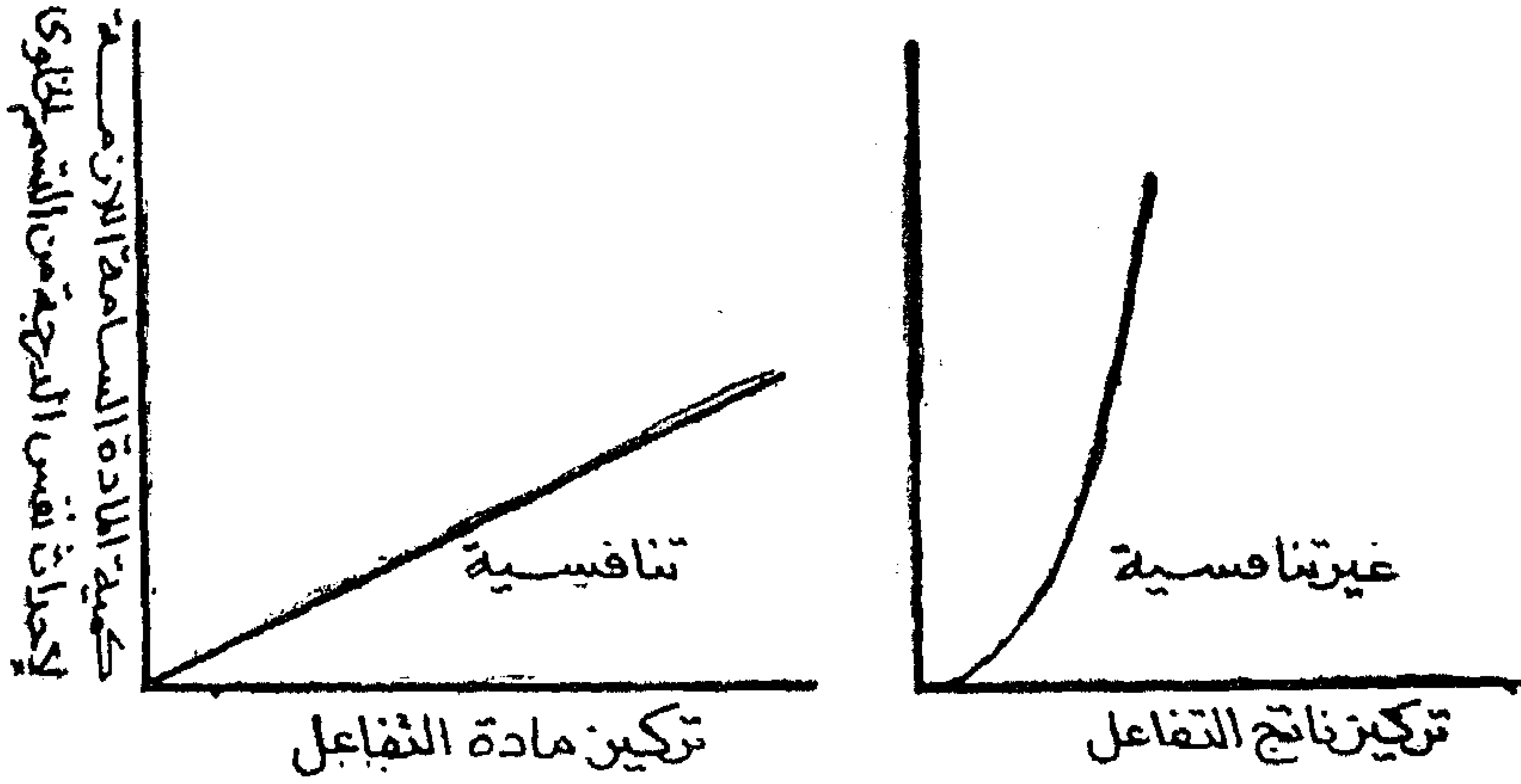




شكل ٨٠ : امثلة من المواد الايضية الهامة metabolites ا ، آ ومشابهاتها والتى تضاد تكوينها بالخلية antimetabolites ب ، بً.

يسمح باستمرار التفاعلات الأيضية الخلوية بطريقتها المعتادة . والمواد التى يمكنها أن تعكس أو تلغى فعل المواد الكيماوية السامة هذه قد تحدث تأثيرها بطريقة تنافسية أو غير تنافسية ، ويمكن أن يقدر لكل مادة من هذه المواد قيمة تعرف «بمعامل التثبيط inhibition index » والذى يختلف من مادة إلى أخرى ويقدر معامل التثبيط طبقاً للمعادلة التالية :—

$$\text{معامل التثبيط} = \frac{\text{تركيز جزيئات المادة السامة}}{\text{تركيز جزيئات المادة الكيماوية التى تعكس الفعل السام والذى يسمح بالنمو}}$$



شكل ٨١ : انواع المنحنيات التى يمكن الحصول عليها فى حالة عكس التأثير الموقف للنمو البكتيرى بطريق تنافسى او غير تنافسى . (ا) لاحظ ان زيادة تركيز مادة تفاعل الانزيم ايضا من تركيز المادة السامة اللازمة لحدوث درجة معينة من التسمم الخلوى . (ب) لاحظ ان إضافة ناتج تفاعل الانزيم المعطل يسمح بحدوث النمو فى وجود التركيزات المرتفعة من المادة السامة .

وكلما قلت قيمة معامل التثبيط المقدر لمادة معينة كلما كان تأثير هذه المادة فى عكس أو الغاء التسمم الخلوى تأثيرا تنافسيا والعكس صحيح . ويبين شكل ٨١ المنحنيات المتحصل عليها عند إضافة المواد العاكسة لفعل بعض المركبات السامة بطريقة تنافسية وغير تنافسية .

وعموما فأنه يمكن عكس الفعل الضار للمواد الكيماوية التى تنافس المواد الأيضية الهامة على سطح الأنزيم بجملة طرق أهمها ما يلى :—

١— زيادة مادة التفاعل الأيضية metabolite : بحيث تفوق تركيزها تركيز المادة الموقفة للنمو inhibitor فى البيئة ، حيث أن ذلك يسمح بادمصاص كمية كبيرة من جزيئات مادة التفاعل على سطح البروتين الانزيمى مما يؤدى إلى زيادة ناتج تفاعل الانزيم بدرجة تسمح باستمرار النمو بالرغم من وجود المادة السامة . وعادة يكون فعل مادة التفاعل فى إعادة النمو فعلا تنافسيا .

٢ - توفير ناتج تفاعل الانزيم الذى يعطل نشاطه نتيجة لادمصاص المادة (الدخيلة) على سطحه . وحيث أن غياب ناتج التفاعل هو السبب فى توقف النمو البكتيرى ، إذن فإضافته للبيئة يعيد النمو بالرغم من توقف الانزيم عن النشاط . فيكون فعل ناتج التفاعل إذن من النوع غير التنافسى non - competitive ويجب أن نفرق هنا بين الفعل غير التنافسى للمادة المضافة كأضافة ناتج التفاعل كما سبق أن بينا وبين عملية التثبيط الانزيمى غير التنافسى noncompetitive inhibition حيث تتحد المادة السامة بالانزيم فى مكان غير ذلك الخاص بمادة التفاعل . ويشترط فى هذا النوع من التثبيط اشتراطان هاما : (أ) أن المادة السامة تحدث تأثيرا مانعا للنمو بدرجة عامة (ب) أن اتحاد المادة السامة بالانزيم تكون مستقلة عن مادة التفاعل . وهناك نوع آخر من التثبيط يعرف بالتثبيط عكس التنافس uncompetitive وفيه أن المادة السامة تتحد مع المركب الناتج من اتحاد مادة التفاعل والانزيم نفسه .

٣ - يمكن التغلب على الفعل السام للمادة الكيماوية بتوفير أى مادة تحل محل مادة التفاعل مثل المواد التى تزيد من معدل نشاط الانزيم ويجعله يعمل بسرعة أكبر مثل اضافة المرافقات الانزيمية . أو باضافة مواد يمكنها أن تتحول إلى بعض المركبات التى تشتق منها ناتج التفاعل الذى أوقف انتاجه بالخلية بمعنى أن يقلل درجة احتياج الخلية من ناتج التفاعل الانزيمى .

٤ - يمكن أيضاً التغلب على الفعل السام للمادة الكيماوية باضافة بعض المواد التى تؤدى إلى انتاج وحدات أكثر من الانزيم نفسه (مثل المواد المبدئية لتكوين الأنزيم precursors أو المرافقات الانزيمية) .

٥ - إضافة بعض المواد التى تتفاعل مع المادة السامة وتزيلها أو تؤدى إلى تقليل تركيزها فى البيئة وبالتالى داخل الخلايا .

هذه هى الطرق التى يمكن بواسطتها الغاء أو عكس الفعل السام للمواد

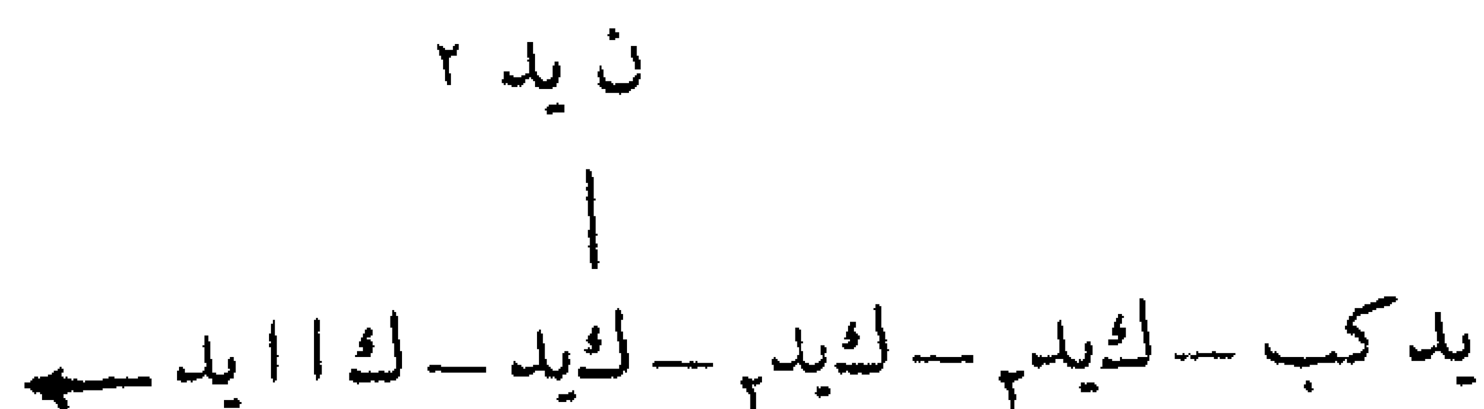
الكيماوية نتيجة لتنافسها مع المادة الأيضية على سطح الانزيم وتعطيلها لتكوين بعض المواد الايضية الأساسية للخلية .

وقد بدأ الاهتمام العملي بالمواد الكيماوية التنافسية واستعمالها كمواد موقفة لنمو البكتيريات عندمابين Wood (١٩٤٠) أن مركب السلفانيلاميد Sulfanilamide ومشتقاته تعتبر مواد موقفة للنمو نتيجة لتنافسها مع حمض البارأمينوبنزويك P-aminobenzoic acid على سطح الأنزيم المسئول عن تكوين حمض الفولك بداخل خلايا الخميرة .

وفيما بعد أثبت Shive (١٩٥٠) أن وجود مركب السلفانيلاميد بالبيئة يمنع نمو البكتيريا *E. coli* كلية ، كما بين أن اضافة مركب الهوموسستايين homocysteine إلى مثل هذه المزرعة يمكنه إعادة النمو ثانية بطريقة تنافسية وأن اضافة المركب ميثايونين methionine يمكنه أيضا أن يعيد النمو ولكن بطريقة غير تنافسية . كما بين أيضا أنه بأضافة مزيد من مركب السلفانيلاميد لمثل هذه المزارع يتوقف النمو ثانية بالرغم من وجود الهوموسستايين أو المثيونين الا أنه عند إضافة مركب ما من مركبات البيورينات purines لمثل هذه المزارع يعود للنمو نشاطه مرة أخرى ، مع تكدس مركب اميدازول كاربوكسيميد imidazole carboximide بالبيئة . كما وجد أيضا أن اضافة الحمض الأميني جليسين glycine بدلا من البيورينات يزيد أيضا من تكديس المركب الأخير بالبيئة .

وإذا أضيف مزيدا من مركب السلفانيلاميد إلى المزرعة فان ذلك يوقف النمو مرة تالية رغم وجود كل من الميثايونين والبيورينات بها ، إلا أنه يمكن إعادة النمو مرة أخرى بأضافة الحمض الأميني Serine إلى المزرعة . أما إذا استمر زيادة تركيز السلفانيلاميد بالبيئة حتى يتوقف النمو مرة أخرى فان النمو يمكن استرجاعه بأضافة مركب الثيمين thymine أو حمض الفوليك Folic acid . ومن هذه الاضافات أمكن التعرف على أن هنالك سلسلة من

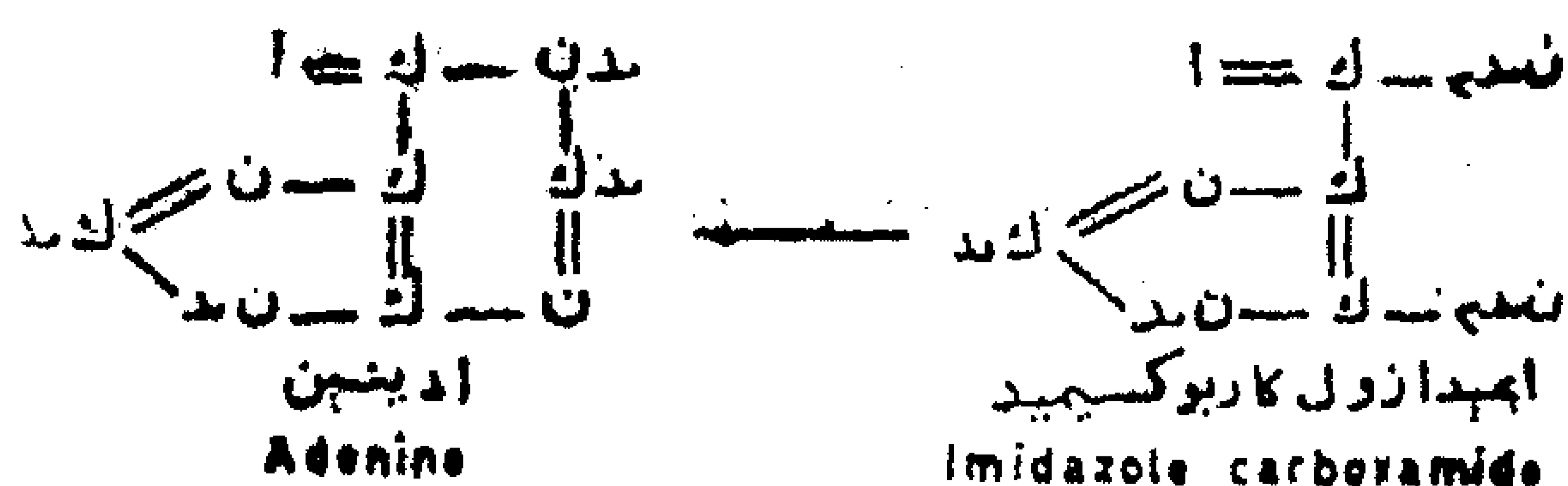
التفاعلات المرتبطة تؤدى بالتالى إلى سلسلة من التحولات الأيضية الهامة للخلية كما هو مبين بالمعادلات التالية :

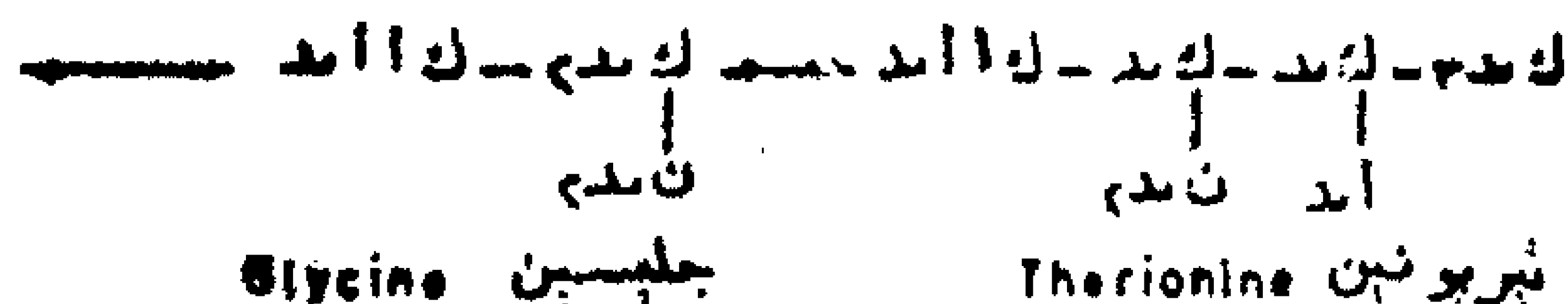


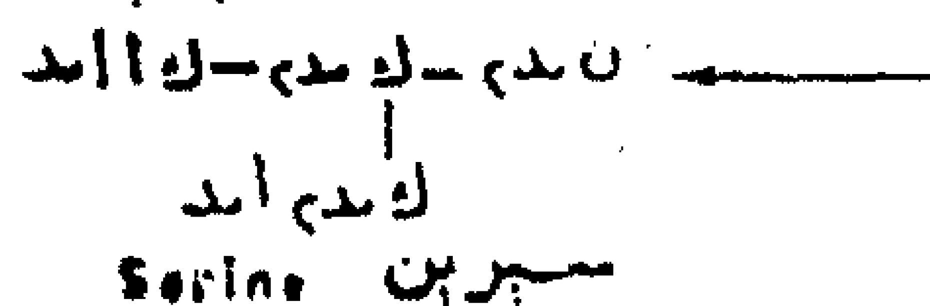
هوموستين Homocystine

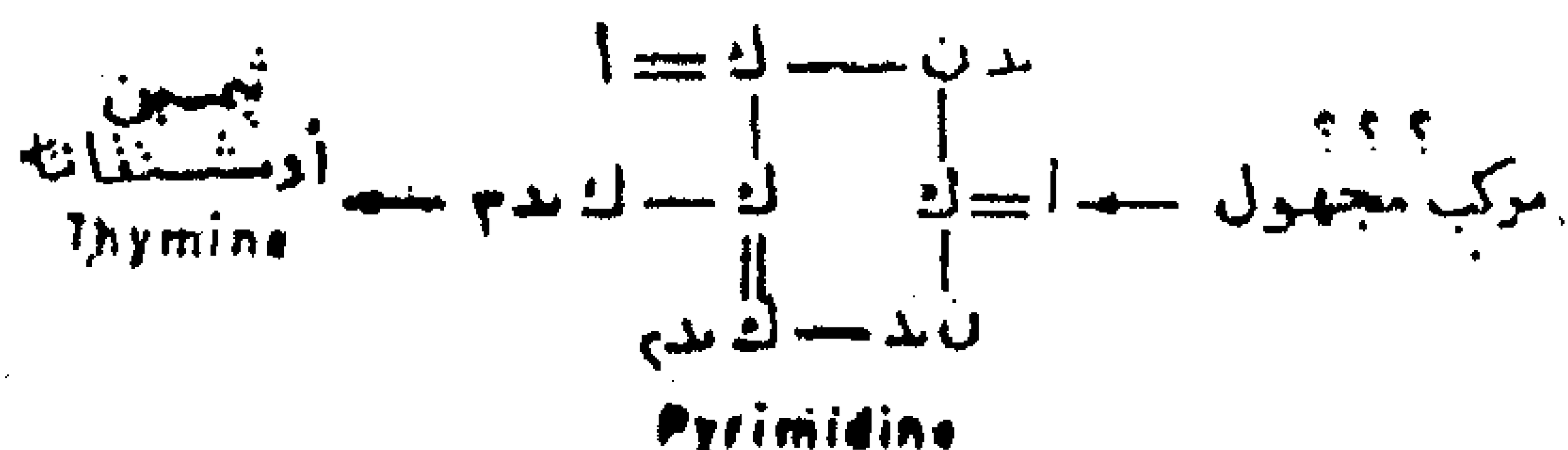
كيد٣ — كب — كيد٢ — كيد٢ — كيد — ك ا ا يد

ميثيونين Methionine ن يد٢



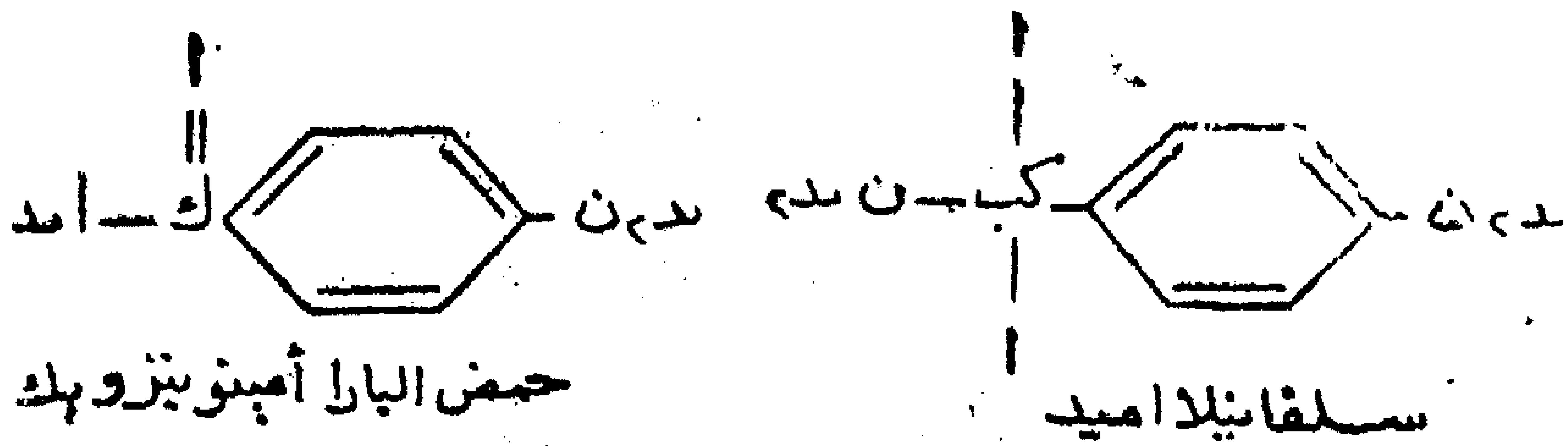


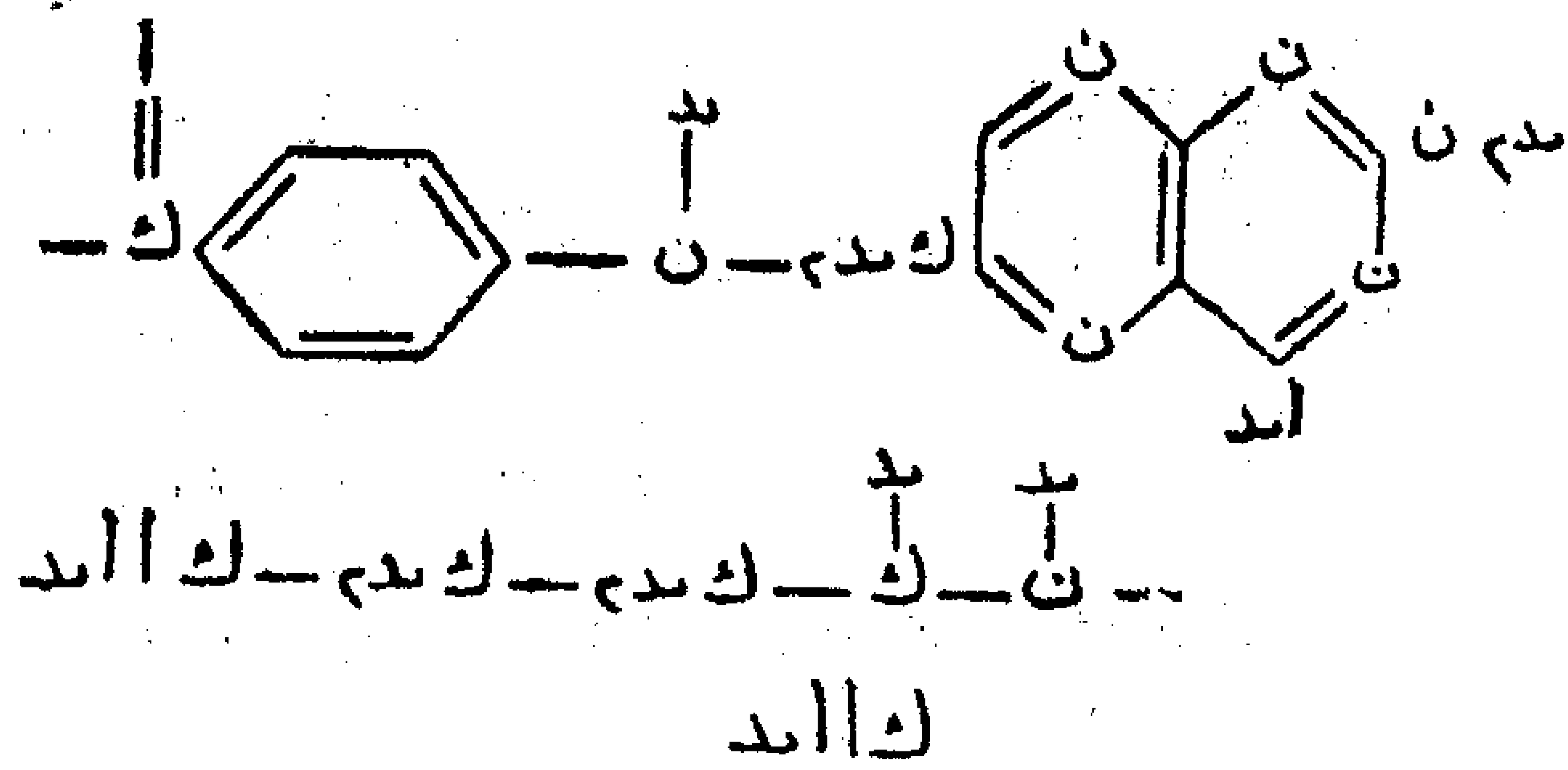




أن وجه التشابه بين هذه التفاعلات جميعا هو حاجة كل منها إلى الفيتامين المعروف باسم حمض الفوليك Folic acid والذى يعتبر ضروريا لاتمام بعض خطواتها من ذلك يبدو أن مركب السلفانيلاميد يتدخل فقط فى عمليات

تكوين حمض الفوليك بالخلية عن طريق حمض البارا — أمينوبنزويك (شكل ٨٢) إذن فتوقف النمو نتيجة لوجود مركبات السلفانيلاميد يرجع إلى حدوث التنافس بينها وبين حمض بارا أمينوبنزويك على سطح الأنزيم ويتوقف بذلك تكون حمض الفوليك اللازم للتفاعلات الحيوية السابق الإشارة إليها .





Folic acid حمض الفوليك

شكل ٨٢ : التركيب الكيماوى لمركبات السلفوناميد . لاحظ ان المركبات تختلف عن بعضها فقط فى نوع المجموعة المحمولة على المركب الأساسى مكان «ر» .

هذا وتوقف نمو البكتريات نتيجة لوجود مركب السلفانيلاميد يمكن الرجوع فيه إذن بطريقة تنافسية بأضافة حمض البارا — أمينوبنزويك وبطريقة غير تنافسية باضافة حمض الفوليك أو نواتج التفاعلات الحيوية التى تتطلب حمض الفوليك كمركب أنزيمى مثل السيرين ، والميثايونين ، والثيمين thymine أو البيوزينات كما سبق أن بينا .

وتعتبر مركبات السلفانيلاميد أول المركبات العضوية التركيبية Synfhetie chemotherapeutic agents التى استعملت داخليا فى علاج الأمراض البكتيرية داخل جسم العائل. والسبب فى ذلك يرجع إلى منعها لتحولات حمض البارا — أمينوبنزويك إلى حمض الفوليك بداخل الخلايا البكتيرية بمعنى أن البكتيريات التى تحتاج إلى مصدر خارجى من حمض البارا أمينوبنزويك أو التى يمكنها تخليقه بنفسها يمتنع نموها كلية فى وجود مركبات السلفانيلاميد . وبالرغم من أن خلايا الانسان والحيوان تحتاج إلى حمض الفوليك إلا أنها لا تتأثر كثيرا فى غيابه .

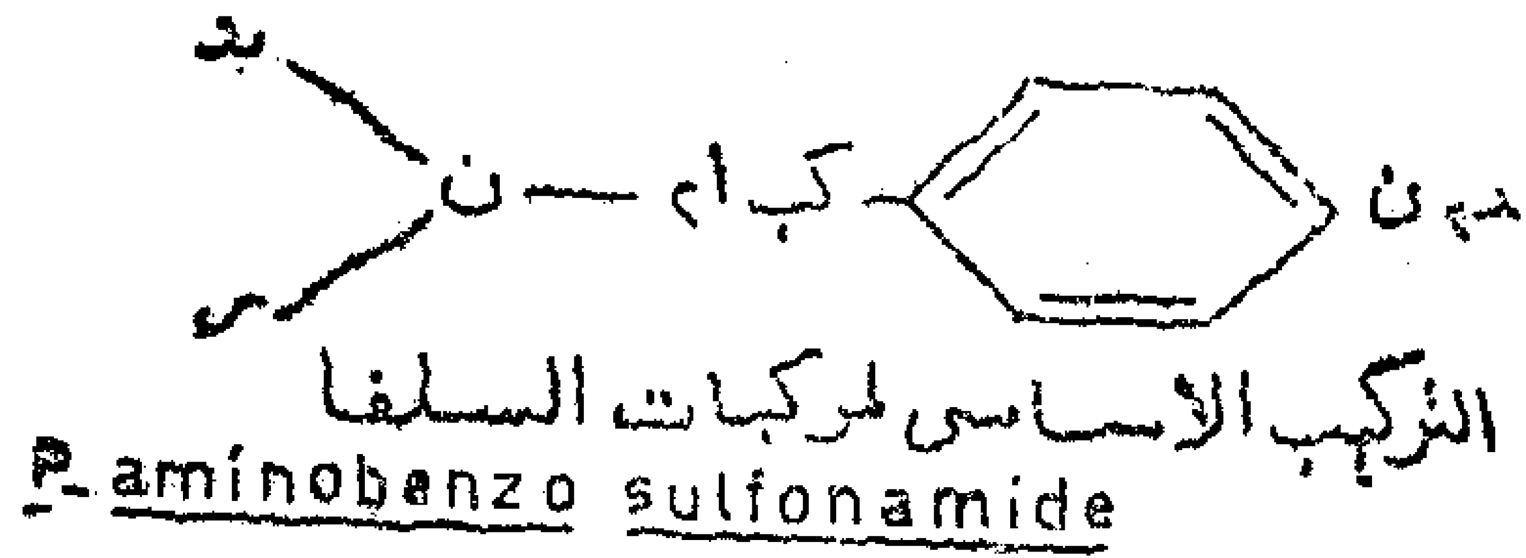
وقد أوجدت عدة مركبات مشتقة من السلفوناميد لأستعمالها داخليا لعلاج كثير من الأمراض الميكروبية . وتركب جميعها أساسيا من المركب المعروف بارا — امينوبنزين سلفوناميد Para aminobenzene sulfonamide .

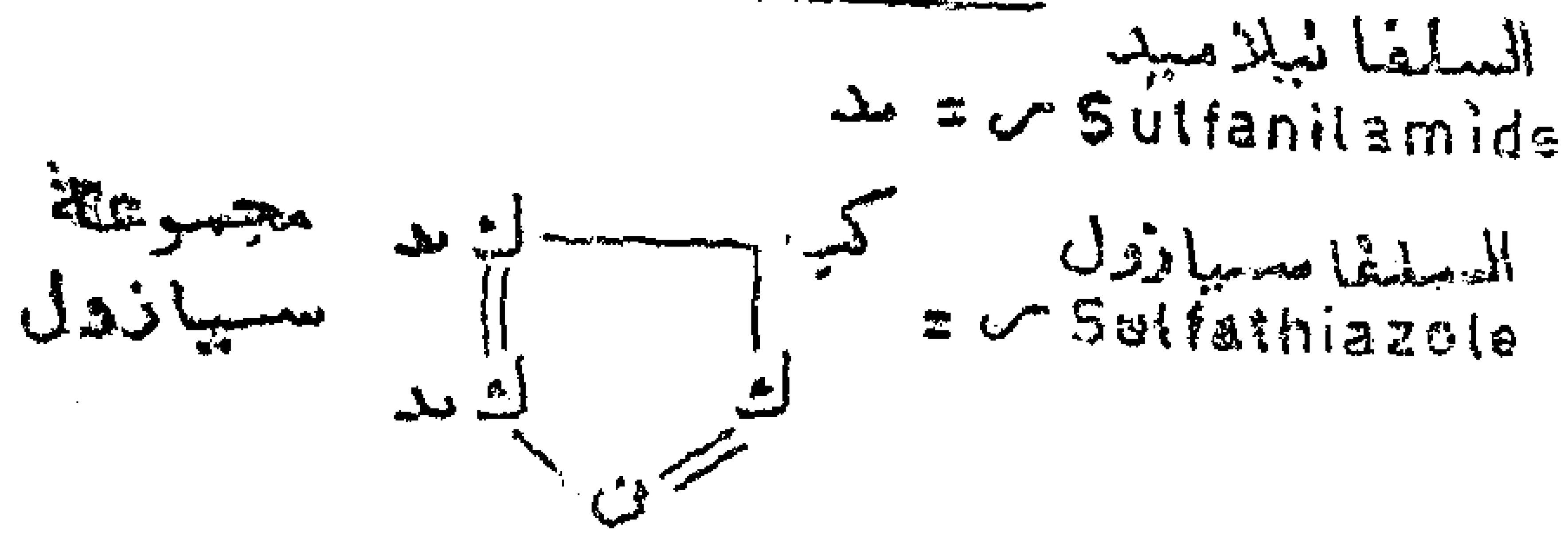
ويبين شكل ٨٣ التركيب الكيماوى للمركبات المختلفة من السلفوناميد . وكما سبق أن ذكرنا فقد جربت عدة مواد (غير مركبات السلفا) لغرض استعمالها للعلاج الداخلى بطريقة تنافسية إلا أن غالبتها كانت ذات تأثير ضار بخلايا العائل لذلك أوقف استعمالها .

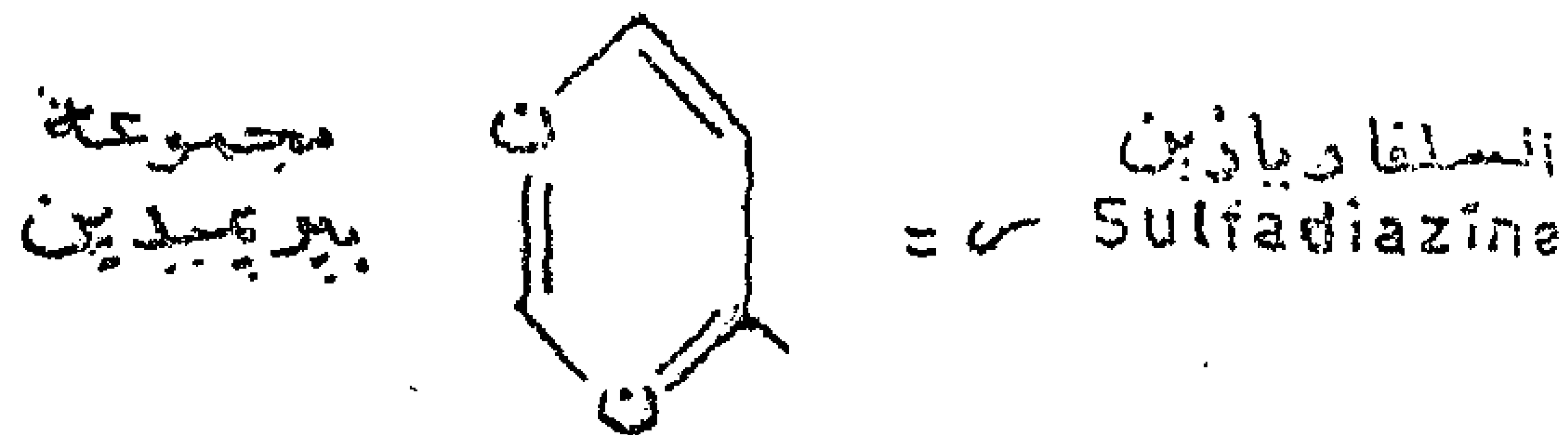
ويشترط حاليا فى المواد التنافسية التى يمكن استعمالها داخليا كمواد علاجية chemotherapeutic agent ما يلى من الصفات :

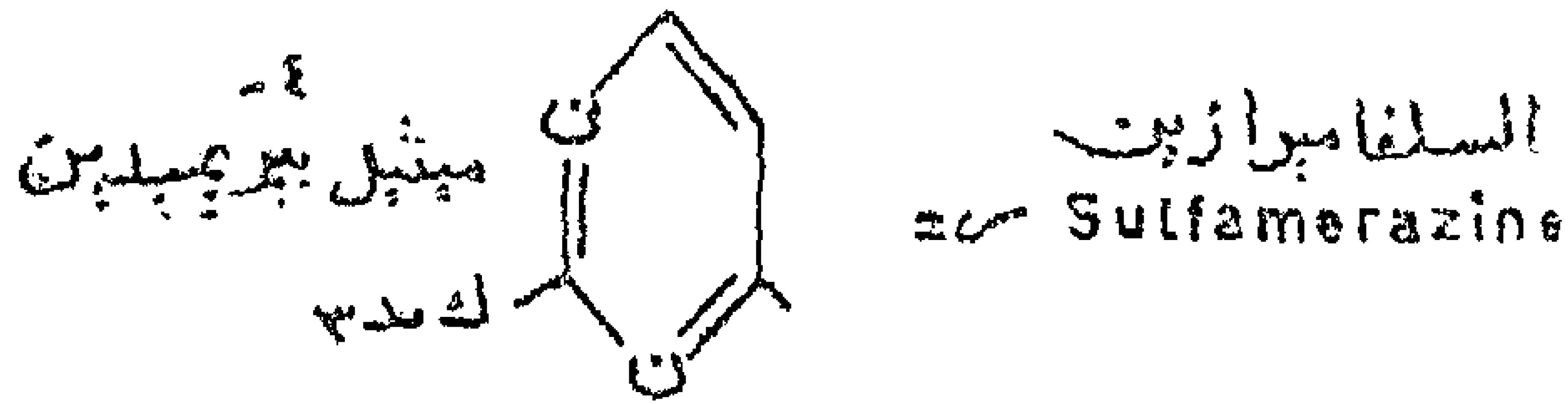
١ — أن تكون قادرة على إبادة الطفيل أو منع نشاطه دون أن تضر بخلايا العائل ، بمعنى أن لا يكون للتفاعلات التى تعطلها أى تأثير على الخلايا الانسانية أو الحيوانية وكما بينا أن هذا الشرط يتوفر فى مركبات السلفوناميد .

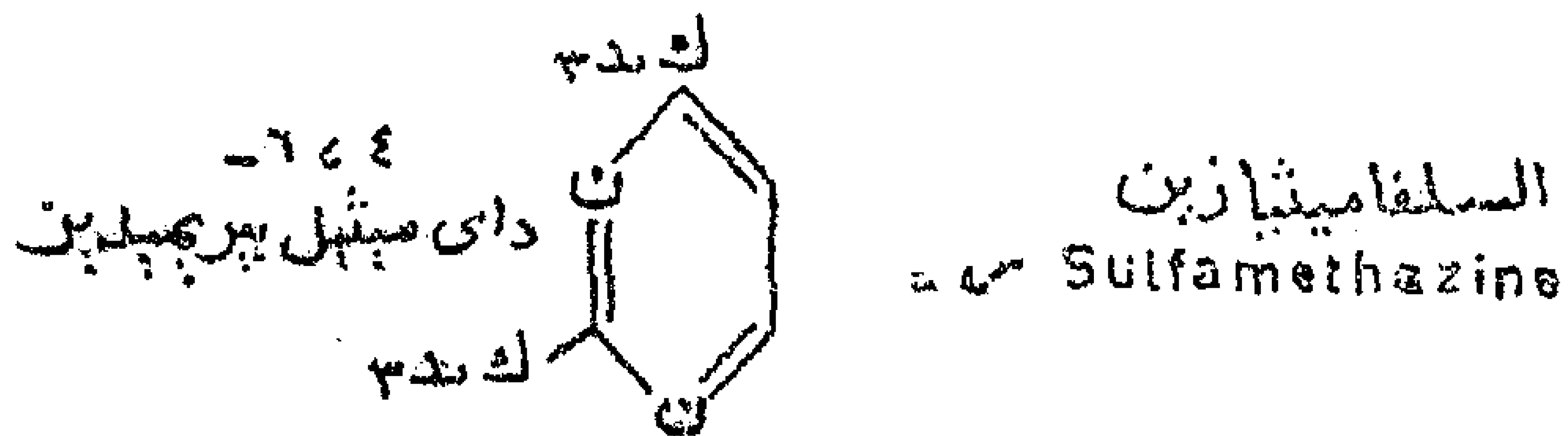
٢ — يستحسن أن يكون للمادة القدرة على الامتصاص أو الدخول إلى الخلية البكتيرية بدرجة أكبر من الخلايا الحيوانية . فمثلا فان التفاعلات التى يوقف تقدمها المضاد الحيوى ستربتومايسين (تفاعلات الحلقة التنفسية النهائية

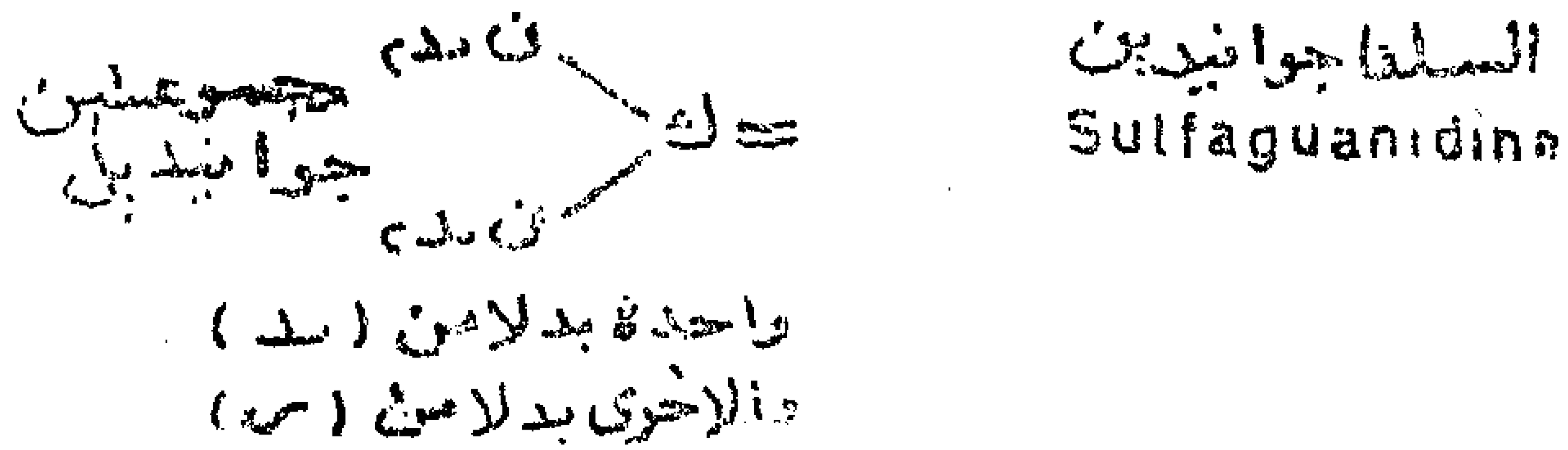












شكل ٨٣ : التركيب الكيماوى لمركبات السلفوناميد . لاحظ أن المركبات تختلف عن بعضها فقط فى نوع المجموعة المحمولة على المركب الأساسى مكان (ر) :

أعنى دورة كربس) تتم أيضا بداخل الخلايا الحيوانية ولكن قدرة تغلغل هذا السبتربتومايسن فى خلايا الحيوان أقل بكثير عنه فى حالة الخلايا البكتيرية. لذلك فان المناطق الحساسة لفعل هذا المضاد الحيوى بخلايا العائل تكون محمية إلى حد ما من تأثيره الضار .

٣ — أن يكون على درجة عالية من الثبات بحيث لا يفسد من تأثير سوائل الجسم الغنية بالبروتينات أو من درجة حرارة جسم العائل .

٤ — يجب أن لا يتدخل أو لا يؤثر على الطرق الدفاعية لجسم العائل مثل كرات الدم البيضاء ، والأجسام المضادة .

المضادات الحيوية : Antibiotics

تحمى الكائنات الحية نفسها فى بيئاتها الطبيعية من تأثير فعل الكائنات الأخرى المضادة لها بطرق : تتلخص فيما يلى : تتجمع الكائنات بأعداد كبيرة حتى تستهلك معظم الغذاء المحيط بها لغرض تجويع الكائن الضار أو المضاد لنموها ، أو تزيد من حموضة أو قلوية البيئة المحيطة بها نتيجة لزيادة تجمعها تصبح البيئة عالية الحموضة أو القلوية بدرجة لا تسمح لنمو منافسيها . أو تزيد من الضغط الأسموزى أو التوتر السطحى للبيئة بدرجة لا تسمح لغيرها بالنمو أو تفرز بعض المواد (مضادات حيوية) تتدخل فى التحولات الأيضية للكائن المنافس والتى تؤدى إلى منع نموه أو قتله .

المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيماوية عضوية تتكون نتيجة التفاعلات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة والتى تكون ذات تأثير مبيد أو موقفة لنمو أو نشاط غيرها من الكائنات الحية الدقيقة بتركيزات قليلة ، ويحسن هنا أن نشير إلى أن المواد التى تعرف باسم عاكسات السموم « «antitoxins» » والتى تتكون بجسم العائل المصاب لغرض تقليل التأثير الضار للطفيل لا تعتبر من المضادات الحيوية .

من مدلول هذه التسمية «مضادات حيوية» يمكن أن نتفهم مدى أهميتها فى تنظيم المحتويات الميكروبية للمزارع المختلطة فى البيئات الطبيعية .

ولا يوجد من الأدلة ما يكفى للتحقق من تأثير مثل هذه المواد السامة على الكائنات التى تؤثر عليها إلا أنه من المعروف أنها تعمل على بعض المراكز الايضية بالخلايا التى تتأثر بها وهذا قد يوضح التشابه فى التركيب الكيماوى بين بعض هذه المواد وبعض المواد الايضية الهامة بالخلايا ولبيان ذلك نسوق المثال التالى :

وجد أن المضاد الحيوى كلورامفينيكول chloramphenichol يشابه فى تركيبه الكيماوى الحمض الأمينى فينيل الانين phenylalanine كما أن اضافة هذا الحمض الأمينى إلى البيئة يمكنه أن يعكس الفعل الضار للتركيزات المنخفضة من المضاد الحيوى المشابه له فى التركيب بطريقة تنافسية .

وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيماوية العلاجية التى تنتج طبيعيا natural chemotherapeutic agents فى علاج كثير من الأمراض الميكروبية المعدية . وبالرغم من الحقيقة المعروفة من أن بعض هذه المواد قد تصنع تجاريا synthetically prepared على نطاق واسع إلا أن غالبيتها لازالت تحضر تجاريا بالأستعانة بالكائنات الحية الدقيقة القادرة على تكوينها .

ومن الناحية التاريخية نذكر أن ظاهرة التضاد الحيوى بين الكائنات الحية الدقيقة عرفت منذ زمن طويل . وأن كلمة تضاد حيوى antibiosis استعملت لأول مرة بواسطة العالم Vuillemin (١٨٨٩) الذى عرفها بأنها الظروف التى يمكن تحتها لكائن حى إبادة كائن حى آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالى والذى أوجده Waksman (١٩٤٥) فى أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات .

وقد عرف نشاط المضادات الحيوية منذ مدة طويلة قبل اعطائها تسميتها الحالية فقد تمكن الصينيون القدامى من استعمال معلق حبوب فول الصويا المخمر بفعل بعض الأعفان فى علاج الدمامل وجروح الأقدام . كما بين Tyndall (١٨٨١) أن البيئة العكرة المظهر نتيجة لنمو بعض البكتيريات بها تصبح رائقة عندما تنمو الاعفان على سطحها .

وقد لاحظ باستير وجوبيرت Pasteur & Joubert (١٨٧٥) أن خلايا البكتيريا *Bac. anthracis* تختفى من المزارع عندما تتلوث ببعض الكائنات الحية الأخرى. كما لاحظ كل من إميرش ولو Emmerich and Low (١٩١٠) أن حقن بعض من مزارع *Ps. aeruginosa* بجسم أرنب التجارب يحميه من الاصابة بمرض الجمرة الخبيثة .

ومن الملاحظات القديمة عن استغلال ظاهرة التضاد الحيوى للميكروبات فى الأغراض العلاجية ما أشار به ميتكنيوف Metchnikoff (١٨٩٩) فى استعمال البكتيريا التابعة لجنس *Lactobacillus* فى علاج الدوسنتاريا . وتعتبر هذه المحاولة مثالا واضحا للعلاج التبادلى replacement therapy والتى تعنى إضافة أو حقن ميكروب غير ضار ليحل محل ميكروب آخر ضار وممرض ويقضى الأول على الثانى داخل الجسم . واستعمال ظاهرة التضاد حاليا لا تعتمد على طريقة العلاج التبادلى بل على استعمال الجوهر النشط فى التأثير على البكتيريات ، والذى يتم الحصول عليه من ناتج نمو الكائنات التى تعرف بقدرتها على افرازه فى بيئة غذائية مناسبة .

ويعتبر كل من جراثيا وداث Gratia & Dath (١٩٢٤) أول من قام بأبحاث منظمة لدراسة المضادات الحيوية حيث أمكنها اكتشاف مادة الأكتينوميسين Actinomycin التى تفرزها بعض اكتينوميسيتات التربة . ولم يستعمل هذا المضاد الحيوى فى علاج المرضى بل أنه استعمل لمعاملة مزارع البكتيريات خارجيا لتحضير الفاكسينات اللازمة .

وفيما بعد لاحظ العالم فلمنج Alexander Fleming (١٩٢٩) أن مزارع *Staphylococcus aureus* الملوثة ببعض الفطريات أمتنع نموها وتحللت خلاياها نتيجة لنمو تلك الفطريات وإفرازها لبعض المواد السامة ، ثم قام بعزل هذه الفطريات للتعرف عليها ودراسة نشاطها . ولما كان الفطر المعزول ينتمى إلى جنس *Penicillium* لذلك أطلق على المضاد الحيوى الذى تفرزه اسم Penicillin ولم يتعرف على أهمية اكتشاف فلمنج لهذا المركب فى علاج أمراض الانسان المعدية إلا خلال الحرب العالمية الثانية .

وابتداء من عام ١٩٣٩ تمكن بعض الباحثون منهم Dubos (١٩٣٩) من عزل سلالة من البكتيريا *Bacillus brevis* لها القدرة على افراز بعض المواد السامة للبكتيريات الموجبة لصبغة جرام والتى تتركب من مادتين مضادتين لهذه البكتيريا وهما Gramicidin ، Tyrocidine ، (Tyrothirin) . واعقب هذا الاكتشاف ما قام به Selman Waksman ومساعدوه (١٩٤٠) من اكتشاف المضاد الحيوى ستربتومايسين .

ومنذ ذلك الوقت اكتشفت مئات من المضادات الحيوية (جدول ١١) ، وأمكن التعرف عليها واستعمل بعضها فى العلاج الداخلى للانسان والحيوان كما أن البعض الآخر قد طور كثيرا من المعلومات المعروفة عن عمليات العلاج الداخلى ، كما أن المزيد وربما المزيد الأفضل من هذه المواد لازالت غير معروفة بعد ، ويبين (جدول ١١) بعض المضادات الحيوية المعروفة حاليا والمستعملة فى العلاج الداخلى للأمراض الميكروبية والكائنات التى تفرزها وتاريخ اكتشافها والمجال الميكروبى التى تؤثر عليه .

وعموما تتميز المضادات الحيوية بقدرتها العالية على إيقاف النمو أو قتل عديد من البكتيريات مع عدم تأثيرها على خلايا العائل المصاب تأثيرا ضارا .

ويجمل بنا أن نشير إلى أن بعض هذه المضادات الحيوية تستعمل الآن فى

علاج الأمراض البكتيرية التى تصيب النباتات أيضا .

وفى كثير من الأحيان تستعمل مخاليط من مضادين حيويين أو أكثر للقضاء على الأمراض التى قد تكتسب مناعة إذا ما أستعمل مضاداً حيوياً واحداً وللقيام بأجراء المزج يجب أن يراعى عدم تدخل أحد أفراد المخلوط فى كفاءة المحتويات الأخرى فى إبادة أو ايقاف نمو المسبب المرضى كما يجب أن تكون مكونات المخلوط من المضادات الحيوية مختلفة عن بعضها من الوجهة الكيماوية حتى يكون لكل منها طريقته الخاصة فى التأثير على الكائنات الممرضة وكذلك لعدم أقلمة الطفرات المضادة لفعل أحد مكونات المخلوط إذاماتكونت بجسم العائل .

وعند خلط المضادات الحيوية بمركبات السلفوناميد أمكن الحصول على نتائج علاجية أفضل بكثير من استعمال كل بمفرده .

وتختلف الطرق التى تؤثر بها mode af action المضادات الحيوية على الكائنات الحية الدقيقة . ففى حالة البنسلين يمكن تلخيص الطريقة التى يؤثر بها على خلايا البكتيريا الحساسة لهذا المضاد الحيوى فى النقاط التالية :—

١ — وجد أن سلالات من البكتيريا *Staphylococcus aureus* عندما نميت فى وجود البنسلين فقدت قدرتها على تجميع الأحماض الأمينية وخاصة حمض الجلوتاميك . فى حين أن السلالات المقاومة للبنسلين من نفس البكتيريا تكون غير محتاجة للأحماض الأمينية التى تعتبر مواد غذائية أساسية للسلالات الحساسة وعلى ذلك فالسلالات التى لا تحتاج لأحماض أمينية كانت مقاومة أما التى تحتاج إلى الأحماض الأمينية فكانت حساسة للبنسلين .

ويعارض ذلك التفسير ما هو معروف أن البكتيريا *Bacillus subtilis* التى يمكنها تخليق الأحماض الأمينية من الأمونيا حساسة للبنسلين .

ب — يثبط البنسلين تكوين الجدار الخلوى وخاصة أنه يتعارض مع ادخال acetyl muramic acid فى بناء الجدار الخلوى . ويعتقد أيضا أن البنسلين يثبط التفاعلات الإنزيمية النهائية التى تربط طبقات الميوكوببتيك خلال الأحماض الأمينية أى تمنع تكوين الروابط العرضية crosslinKing التى تربط سلاسل الميوكوببتيد . ولذلك لا يؤثر البنسلين على خلايا العائل مثل الإنسان والحيوان وكذلك على خلايا بعض الكائنات الدقيقة مثل الميكوبلازما لعدم إحتواء خلاياها على الميوكوببتيد .

حـ — ثبت أن الخلايا العصوية الحساسة للبنسلين تنتج نتوء فى جدار الخلية والتى تندفع منها السيتوبلازم ويحدث تحلل للسيتوبلازم .

وتوجد مجموعة من المضادات الحيوية يكون تأثيرها عن طريق تثبيط تخليق البروتين فقد وجد أن الإستربتوميسين ونيوميسين والكاناميسين ترتبط بالريبوسوم 30 s مما يؤدى إلى إستطالة elongation السلسلة الببتيدية . وتيترا سيكلين يرتبط بالريبوسوم 30 s مما يؤدى إلى تثبيط إرتباط الـ aminoacid - t RNA بالريبوسوم . أما الكلورامفينيكول فيرتبط بالريبوسوم مما يؤدى أيضا إلى تثبيط إرتباط amio acid - t RNA بالريبوسوم 50s.S.. ولحسن الحظ فإن ريبوسومات الإيوكاريوتات من النوع 80 s والتى تختلف فى تركيبها ولذلك لا تتأثر بمثل هذه المضادات الحيوية . وكذلك فإن الريبوسومات 70 s الموجودة فى بعض مكونات خلايا الإيوكاريوتات مثل الميتوكوندريا فإنها لا تتأثر بهذه المضادات الحيوية .

وتوجد بعض المضادات الحيوية مثل الجريسوفالفين تثبط تخليق الـ DNA وأنواع أخرى مثل الباسيتريسين Bacitracin والبوليميكسين تتداخل مع الأغشية السيتوبلازمية مما يؤثر على تركيب الغشاء السيتوبلازمى فيحدث تحرر للبروتينات من الغشاء مما يؤدى إلى فساد الغشاء ويؤدى ذلك لحدوث رشح لمحتويات الخلية ويحدث لها تحلل .

جدول رقم ١١ : بعض المضادات الحيوية المتوفرة حالياً والمستعملة فى علاج الامراض
كروبية التى تصيب الانسان والحيوان والنبات .

م المضاد الحيوى	المصدر	تاريخ اكتشافه	بعض الكائنات التى يؤثر عليها (المجال المكروبى)
لين Penicillin	*Penicillium notatum*	١٩٢٩	ابكتيريا الموجبة لجرام ، Clostridia و Neisseria و Spirochaetes و corynebacteria و Actinomycetes
وثيرين Tyrothirin	*Bacillus brevis*	١٩٣٩	البكتيريا الموجبة لجرام .
بتومايسين Streptomycin	*Streptomyces griseus*	١٩٤٤	البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام ، *Mycobacterium tuberculosis,* اكتنيوميسيتات . ويستعمل حاليا فى علاج أمراض النبـــات البكتيرية
Dehydrostreptom	يحضر باضافة الهيدروجين إلى السابق		له نفس المجال الميكروبى .
ورامفينيكول chloramphenicol	*Steprtomyces venezuelae*	١٩٤٧	بكتيريا موجبة وسالبة لجرام ، الريكيتزيا والفيروسات الكبيرة .
ليميكسين	*Bacillus polymyxa*	١٩٤٧	بكتيريا القولون ، أفراد جنس *Haemophilus* ، بعض البكتيريات الكروية Streptococci ، staphylococci
لوروتتراسيكلين Chlortetracycline	*Streptomyces aureofaciens*	١٩٤٨	بكتيريا موجبة وسالبة لجرام ، ريكيتزيا وفيروسات كبيرة ويستعمل مخلوطا بالستربتومايسين فى مقاومة بكتيريا أمـــراض النبات .
ومايسين Neomycin	*Streptomyces fradiae*	١٩٤٩	بكتيريات سالبة لجرام فقـط ميكروب السل .
وماجلين Fumagellin	*Aspergillus sp.*	١٩٥٠	البروتوزوا *Entamaeba histolytica* (الدوسنتاريا الأميبية)

اسم المضاد الحيوى	المصدر	تاريخ اكتشافه	بعض الكائنات التى يؤثر عليها (المجال الميكروبى)
أوكسى تتراسيكلين oxytetracycline	*Streptomyces rimosus*	١٩٥٠	بكتيريات موجبة وسالبة لجرام والريكيتزيا *Treponema*
فيومايسين Viomycin	*Streptomyces puniceus*	١٩٥٠	ميكروب السل، وبعض البكتيريات السالبة لصبغة جرام والتابعة لجنس *Bacillus*
نيستاتن Nystatin	*Streptomyces noursei*	١٩٥١	*Candida albicans* المسبب للأمراض الجلدية وبعض الفطريات الأخرى .
اريثرومايسين Erythromycin	*Streptomyces erythraeus*	١٩٥٢	بكتيريات موجبة وسالبة لجرام ، ريكيتزيا وفيروسات كبيرة ، مايكو بكتيريا
كاربومايسين Carbomycin	*Streptomyces halsdii*	١٩٥٢	بكتيريات موجبة لجرام ، ريكيتزيا فيروسات كبيرة .
اتتراسيكلين Tetracyciline	*Streptomyces aureofaciens* أو بمعاملة الكلوروتترا سيكلين بالأيدروجين	١٩٥٣	يؤثر على ما يأتى *klebsiella pneumonia* *Salmonella typhosa Streptococous mitis Pasteurella multocia* Staphylococci
مفومايسين Amphomycin	*Streptomyces canus*	١٩٥٣	الميكروبات الموجبة لجرام ، كورينى بكتيريا ، *Trypancsoma*
انسيومايسين Anisomycin	*Streptomyces* spp.	١٩٥٤	بروتوزوا *Entamoeba histolytica* (الدوسنتاريا الاميبية)

بعض الكائنات التى يؤثر عليها (المجال الميكروبى)	تاريخ اكتشافه	المصدر	اسم المضاد الحيوى
بكتيريات موجبة لجرام ، مايكو بكتيريا ، ريكيتزيا ، فيروسات كبيرة ، بعض البروتوزوا ، بعض أنواع *Haemophillus Neisseria Brucella*	١٩٥٤	*Streptomyces antibioticus*	وليياندومايسين Oleandomycin
بكتيريات سالبة لجرام *Proteus* ، *Aerobacter Pseudemonas Escherichia* وميكروب السل .	١٩٥٥	*Streptomyces orchidaceus*	سيكلوسيرين Cycloserine
Streptococcus Proteus Staph. aureus Diplococcus phemoniae , faecalis	١٩٥٥	*Strptomyces niveus* *Streptomyces spheroides*	نوفوبايوسين Novo-biocin
البكتيريا الموجبةو السالبة لجرام		*Cephalosporium* spp	سيفالوسبورين Cephalosporins
بعض الفطريات		*penicillium griseofulvum*	جريسوفالفين Griseofulvin
بكتيريات موجبة لجرام		*Streptomyces Kanamyceticus*	كانامايسين Kanamycin

مقاومة البكتيريات للمضادات الحيوية :

ان اكتساب مقاومة مزرعة بكتيرية أو أى كائن دقيق آخر للفعل الضار للمضادات الحيوية تعتمد كثيرا على تكوين طفرات مقاومة أو إلى حدوث الانتخاب الطبيعى لسلالة طفرية مقاومة . وكما سيتبين فى الباب التالى فالطفرات عموماً تنشأ تلقائياً spontaneously ويمكن زيادة معدل حدوثها صناعيا بالمعمل induced نتيجة لبعض المعاملات الفيزيائية أو الكيمائية الخاصة .

وحيث أنه يفترض أن المضادات الحيوية تحدث فعلها الضار عن طريق تدخلها فى النظم الانزيمية الخلوية ، فمن المحتمل أن المقاومة تعنى أن خلايا الطفرات المتكونة يمكنها أن تستعيض عن الطريق الانزيمى الذى تعطل بفعل المضاد الحيوى بطريق انزيمى آخر لا يتأثر . وتمثل السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية بعض الصعوبات والمشاكل التى تواجه المشتغلين بعلاج الأمراض الميكروبية وتدفعهم اتباع ما يلى لمنع حدوثها :—

(١) عدم الاسراف فى استعمال المضادات الحيوية إلا فى الحالات القصوى (٢) استعمال الجرعة الكافية للقضاء على العدوى . (٣) استعمال مخاليط المضادات الحيوية التى ثبتت كفاءتها العلاجية كما سبق أن بينا . (٤) استعمال مضاد حيوى آخر فى حالة الشك فى حدوث تأقلم سلالة من المرض مقاومة للمضاد الذى استعمل من قبل ، ويشترط أن يكون المضاد الحيوى الجديد مختلف عن الآخر من ناحية التركيب الكيماوى حتى لا تقاومه السلالة المتأقلمة . (٥) الامتناع عن استعمال المضادات الحيوية الشائعة فى المنطقة والمستعملة بكثرة فى علاج الأمراض المعدية المحلية . (٦) إجراء الأختبارات المعملية السريعة للتعرف على أكفأ المضادات الحيوية فى منع نمو الميكروب المسبب للمرض .

وتحدث المقاومة لفعل المضادات الحيوية عادة بين أفراد البكتيريا

Staphylococci, Micrococci وكذلك ميكروب السل ، وبعض أنواع البكتيريات العصوية السالبة لصبغة جرام ، وبعض البكتيريات التى تسبب أمراضا نباتية وبخاصة التابعة لجنس *Erwinia* .

الصفات الواجب توافرها فى المضادات الحيوية :

سبق لنا أن ذكرنا أن المضادات الحيوية هى مجموعة من المواد العلاجية التى تستعمل داخليا Chemotherapeutic agents ، لذلك يجب أن يتوفر فيها كل مقومات المواد العلاجية والمستعملة لهذا الغرض علاوة على ما يلى من صفات :

١ — يكون لها القدرة على إبادة عدد كبير من الأنواع الطفيلية بمعنى أن يكون لها مجال ميكروبى واسع .

٢ — يجب أن لا يكون لها القدرة على انتخاب سلالات مقاومة لها من الطفيليات .

٣ — يجب أن لا تحدث تأثيرات ثانوية side effects بجسم العائل مثل الحساسية أو التأثيرات السامة ، أو التأثير على الأعصاب . أو تهيج الكلية أو القناة الهضمية .

٤ — يجب أن لا تقضى على الميكروفلورا الطبيعية للعائل ، أو بمعنى آخر أن لا تؤثر تأثيرا مبيدا شاملا على محتويات القناة الهضمية من الكائنات الحية الدقيقة النافعة ، إذ أن حدوث ذلك يفسد التوازن الطبيعى لهذه الميكروفلورا ويسمح بتأقلم كثير من الكائنات غير المرضية أو المرضية جزئيا والتى كانت الفلورا الطبيعية بجسم العائل تعمل على عدم تأقلمها .

وكلما كان المضاد الحيوى ذا مجال ميكروبى واسع ، كلما كانت له القدرة على القضاء على الميكروفلورا الجسمية التى تقوم بتجهيز الفيتامينات اللازمة

للجسم فيشترط عند استعمال مثل هذا المضاد الحيوى إعطاء العائل كميات كافية من الفيتامينات وخاصة تلك التابعة لمجموعة «ب» والتى كانت الفلورا الطبيعية بالقناة الهضمية تقوم بتغليفها .

ثالثا — الأجسام الكروماتينية أو النواه :

ان المنطقة الثالثة بالخلية البكتيرية والتى تتأثر من فعل المواد الكيماوية السامة هى المحتويات النووية . إذ يمكن أن يحدث لهذه المحتويات تثبيط كيماوى أو يحدث بها تغييرات معينة وخاصة لمكوناتها من البروتينات النووية . وقد يؤدى تأثير المادة الكيماوية السامة إلى حدوث طفرات مميتة lethal mutation ويطلق على المواد الكيماوية التى تحدث هذا التأثير اسم المواد التطفرية mutagenic agents أو chemical mutagens ومن هذه المواد مركب الخردل النيتروجينى nitrogen mustard ، والفورمالدهيد ، وكلوريد المنجنيز وفوق أكسيد الايدروجين وغيرها من المواد كما سنبين فيها بعد (الباب الرابع) .

وتأثير هذه المواد على البروتين النووى لازال غير معروف ، إلا أنه من المحتمل أن يكون هذا التأثير نتيجة لحدوث ارتباط بين هذه المواد وبين المجاميع الفعالة من الأحماض النووية المكونة للبروتين النووى مؤدية إلى تغيير الصفات الوراثية التى تتحكم فيها ، ولما كان هناك كثير من المواد الكيماوية الأخرى يمكنها الارتباط بالبروتين النووى ولكن وليس لها أى تأثير تطفرى ، إذن فلابد وأن هذه الكيماويات التطفرية تتفاعل مع الـ DNA الخلوى بطريقة خاصة غير معروفة يكون من نتيجتها حدوث الطفرات .

المراجع

Albev, A. 1951. Selective toxicity, With special reference to chemothrapy Methuen and Co., London.

First International Confeience on the use of antibictics in Agricultur Proceedings, Publication 397. Academy of Science, National Res. Council, Washington D.C.

Grove, Donald C., and W.A. Randall. 1955. Assay methods of antibiotic A Laboratory manual of Antibiotics. Monographs No. 2. Medical Encylopedia, Inc. N.Y.

Glassman, H.N. 1948. Surface active agents and their application in bacteriology. Bac. Rev., 12 : 105.

Levy, J.J.J.R. Cambell, and T.H. Blackburn. 1973 Introductory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.

McCulloch, E.C. 1945 Disinfection and sterilization. Lea and Febiger, Philadelphia.

Mine, R.W., and B.. Hennegan. (eds.) 1950. Mechanism and evolution of anticeptics. Annals of the New York Academy of Science 53:1-219

Reddish, G.F. 1957. Anticeptics, disinfectans, and Chemical and physical sterilization. Lea and Febiger, Philadelphia.

Shive, W. 1950 Inhibition analysis with sulfanilamide, with *E. coli* Annals of the New York Academy of Science, 52 : 1212.

Waksman, S.A. 1945. Microbial antogonisms and antibiotic substances. The Common wealth Fund, N.Y.

Waksman, S.A. and H.A. Leche Valier 1953. Guide of the Classification and identification of the Actinomycetes and their antibiotics. The Williams and Wilkins Co. Baltimore, Md., U,S,A,

Work, T.S. and E. Work. 1948. The basis of chemotherapy. Intersicence Publishers, N.Y.

Wooley, D.W. 1950. Antimetabolites. Annals of the New York Academy of Science, 52 : 1197.

Wood, D.D. 1940. The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of action of sulfanilamide. Britsh. J. Pathol., 21 : 74 - 90.

Wyss, O. 1951. Chemical factors affecting growth and death in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds.) Bacterial Physiology. Academic Press N.Y.

Wyss, O. 1953. «Symposium on the mode of action of antibiotics» Bact Rev., 17 : 17.

الباب السابع

وراثة البكتيريا

بالرغم من أن الدراسات الوراثية التى تمت على البكتيريات إلا أنها لا زالت تعتبر من أحدث ميادين الدراسة فى علوم الحياة التى تقدمت تقدماً ملحوظاً خلال الخمس والثلاثون عاماً الماضية فقد نشر خلال تلك الفترة عدد كبير من الأبحاث التى تعالج الكثير من المواضيع الوراثية للبكتيريات المختلفة والتى أمكن عن طريقها حل كثير من المشاكل البكتيريولوجية المختلفة سواء الطبية منها أم البيوكيمائية أو الصناعية أ و الزراعية .

ونظراً للأهمية المتزايدة لهذا الفرع من العلوم فقد بدأ الكثير من جامعات العالم اضافة علم « وراثة البكتيريا » إلى جداول دراستها المتقدمة .

ويرجع السبب فى تأخر الدراسات الوراثية فى البكتيريا إلى عدم قدرة علماء البكتيريولوجيا القدامى على مشاهدة الجهاز النووى (النواة) بالخلية البكتيرية وبالتالى عدم قدرتهم على مشاهدة محتويات النواة من الكروموسومات للتعرف على شكلها ولتقدير عددها ومعرفة طريقة توزيع العوامل الوراثية عليها . على أن تكاثر البكتيريا يتم عادة عن طريق غير جنسى ، الأمر الذى لا يمكن معه دراسة طرق انتقال الصفات الوراثية من الآباء إلى الأجيال المتعاقبة بطريقة مشابهة لتلك التى تدرس بها فى الكائنات التى تتكاثر جنسياً . وبالرغم من عدم اهتمام العلماء القدامى بوراثة البكتيريا للصعوبات السابقة الذكر ، إلا أنهم قد لا حظوا التصنيفات البكتيرية Bacterial variations المختلفة والتى تحدث للمجاميع البكتيرية وكانوا يفسرون حدوثها بمبررات غير وراثية .

ففي خلال الفترة ١٧٤٤ — ١٨٢٩ نادى العالم الفرنسي لامارك Lamark بنظريته عن وراثة الصفات المكتسبة inheritance of acquired characterestics وحاول عن طريقها تفسير حدوث التصنيفات البكتيرية . ولم يكن من المستغرب حينئذ أن تنتشر نظرية لامارك هذه بين علماء البكتيريولوجيا القدامى لغياب غيرها من النظريات المفسرة لظاهرة التصنيفات البكتيرية ومن المقطوع به أن الاختلاف أو التصنيفات الفردية التي تحدث لأفراد المجموع البكتيري الذي يتكاثر بطريقة لا جنسية وبسرعة فائقة كانت ولا زالت في كثير من الأحوال تمر دون ملاحظة الباحثين لها ، إلا إذا سمح للخلية المتغيرة بالتكاثر بتهيئة الظروف الملائمة لتكاثرها عدة أجيال حتى يزداد تعدادها وتصبح أكثر وضوحاً . والطرق الدراسية القديمة كانت تسمح فقط بملاحظة التغييرات التي تحدث للمجموع كله دون الأفراد المكونة له وفي ذلك نجحت نظرية لامارك فقط في تفسير مثل هذه التغييرات الجماعية .

وفيما بعد حاول عديد من الباحثين ، تفسير حدوث التغييرات الجماعية population changes هذه بأربع طرق مختلفة .

أولا : اعتقد كثير من العلماء أن هذه التغييرات الجماعية تحدث نتيجة للتطبع المباشر direct adaptation والذي يتسبب عن تأثير البيئة على كل أو بعض خلايا المجموع .

ثانيا : اقترح البعض الآخر من العلماء أن هذه التصنيفات الجماعية تحدث نتيجة لتغييرات دائمة lasting modifications ، وتنشأ أيضاً تحت تأثير الظروف البيئية . بمعنى أنها تطبع بيئي ولكنه قد يستمر لعدة أجيال بعد زوال العامل البيئي المسبب للتصنف .

ثالثا : اعتقد بعض العلماء القدامى أن حدوث التغييرات الجماعية يرجع

إلى إمتلاك البكتيريا لدورة حياة منظمة orderly life cycle بمعنى أن التغييرات التى تشاهد تكون مستقلة تماماً عن البيئة وترجع إلى تناوب الأطوار المختلفة أثناء دورة الحياة .

رابعا : حاول بعض العلماء أن يضع التصنيفات البكتيرية فى نفس المستوى مع تلك التى تحدث للكائنات الراقية . وقد نالت التفسيرات التى اتخذت هذا الافتراض أساساً لها تأييداً كبيراً من العلماء ولا سيما عندما سمحت الطرق الدراسية الحديثة باجراء التجارب العلمية الدقيقة التى أثبتت صحة هذا الإعتقاد ، ومن الطرق البحثية التى أجريت لتأييد هذا الاعتقاد : (ا) القدرة على التمييز بين التغييرات التى تؤثر على الخلايا الفردية وتلك التى تؤثر على كل الخلايا المكونة للمجموع . (ب) القدرة على التفرقة بين حدوث التغييرات فى وجود أو غياب عوامل البيئة . (ج) إظهار الزيادة فى سرعة حدوث التصنيفات فى المجاميع البكتيرية عقب تعريضها للعوامل الطفرية mutagenic agents المختلفة .

ولقد شهد عام ١٩٤٠ والأعوام التالية له التقدم السريع لهذه الدراسات حيث بدأت الدراسات العلمية المنظمة فى ميدان الوراثة البكتيرية . هذا والتاريخ العلمى القديم لا يخلو أيضاً من بعض الدراسات التجريبية القيمة من التصنيفات البكتيرية والتى لا تقل أهمية عن الأبحاث والإكتشافات الحديثة .

وسوف نتناول فى فصول هذا الباب دراسة لبعض الظواهر الوراثية التى تحدث للمجاميع البكتيرية محاولين الاستعانة بقدر الإمكان بالأبحاث الحديثة التى أجريت على البكتيريات المختلفة .

الفصل الأول

التطفر Mutagensis

إن الإتجاه التجريبى نحو دراسة الوراثة بالبكتيريا كان دائماً موجهاً إلى التعرف على قدرة الخلايا البكتيرية على التطفر mutability وإلى التعرف على منشأ الطفرات ومسبباتها وتأثيرها على المجاميع البكتيرية . ومن أهم النتائج التى أسفرت عنها مثل هذه الدراسات إثبات أن التصنيفات الوراثية التى تحدث للخلايا البكتيرية ترجع فعلا إلى التطفر . كما أمكن تعريف الطفرات البكتيرية شأنها شأن طفرات الكائنات الأكثر رقياً ، بأنها تغييرات تلقائية spontaneous غير موجهة undirected تطرأ على ترتيب قواعد البيورينات والبيريميدات فى التصميمات الوراثية لتحدث بها تغيير دائم فى الصفات الوراثية للخلايا . والطفرات من الظواهر النادرة والقليلة الحدوث فهى تحدث عادة على معدل يتراوح بين ١ × ١٠^{-٤} — ١ × ١٠^{-١٠} لكل خلية بكتيرية لكل جيل . وهذا يعنى ، أن خلية واحدة لكل عشرة آلاف خلية أو خلية واحدة لكل عشرة بلايين خلية تكون معرضة لتكوين طفرة .

ويندر مشاهدة الطفرات التلقائية spontaneous mutations ، إلا إذا كانت البيئة الطبيعية وظروفها تسمح لتأقلم الطفرة المتكونة فى المجموع الذى تنشأ فيه والا فتكون فرصة بقاء الطفرة وتأقلمها قليلة جداً بحيث تمر دون ملاحظة .

ومعامل التطفر mutation rate يكون عادة ثابتاً لكل عامل وراثى فى كل نوع أو سلالة بكتيرية ، فمثلا معامل تطفر السلالة «ب» من البكتيريا *E. coli* الحساسة للمضاد الحيوى ستربتومايسين إلى سلالة مقاومة لهذا المضاد الحيوى يقدر ١ × ١٠^{-١٠} ، وإذا أعيد تقدير معدل التطفر تجاه هذه الصفة لعدة مرات وفى أوقات متفرقة كانت النتائج ثابتة دائماً . إلا أن هناك بعض

الظروف البيئية ما يمكنها أن تزيد من معدل التطفر بما يقرب من ١٠ — ١٠٠,٠٠٠ مره ومثل هذه العوامل يطلق عليها مواد تطفرية أو عوامل تطفرية mutagens أو mutagenic agents . ومن هذه العوامل التطفرية ، الإشعاعات الثابتة كالأشعة السينية ، والأشعة فوق البنفسجية ، والمواد القلوية كالخردل النيتروجيني Nitrogen mustard والخردل الكبريتي Sulfure mustard وهنالك بعض عوامل كيماوية أخرى يمكنها أن تؤدى إلى زيادة معدل التطفر منها البيروكسيدات peroxides ، سبق معاملته مثل فوق أكسيد الايدروجين، وكذلك المواد المعروفة باسم carcenogenic substances مثل مركبات الاكريفلافين acriflavin وبعض مشتقات البيورينات purines ، وبعض المضادات الحيوية والمواد الكيماوية البسيطة مثل كلوريد المنجنيز وحمض النتروز أو الأكثر تعقيداً مثل بعض الأصباغ كصبغات الإكريدين ، يوراثان والهيدروكسال امين .

كما لوحظ أن معاملة بيئة الزرع بالأشعة البنفسجية أو بمادة فوق أكسيد الإيدروجين قبل تلقيحها بالبكتيريا تزيد أيضاً من معدل التطفر. ويعتقد أن هذه المعاملات تؤدى إلى تكوين أو زيادة البيرواكسيدات بالبيئة وهذه فى حد ذاتها مواد تطفرية .

وعند تعريفنا للطفرات ذكرنا أنها غير موجهة undirected وهذا يعنى أنها تحدث مستقلة تماماً عن ظروف البيئة التى توافق نموها وتأقلمها . من ذلك نرى أن الطفرات التى تنشأ وتكون مقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين تحدث فى المجاميع البكتيرية التى تنمو فى غياب هذا المضاد الحيوى . ولكن لانتخاب أو لعزل مثل هذه الطفرات يجب تعريض المجموع المحتوى عليها لتأثير هذا المضاد الحيوى . وتحت هذه الظروف فان خلايا المجموع الأصلى الحساسة لتأثير المضاد الحيوى تفشل فى النمو فى وجوده فى حين أن الطفرة أو ناتج نموها يمكنها النمو تحت هذه الظروف نظراً لمقاومتها له ،

وتعرف مثل هذه البيئة كما سبق أن بينا ببيئة الانتخاب selective medium . ومثل هذه الطرق الانتخابية لها أهمية كبرى فى إظهار الطفرات التلقائية التى تنتج طبيعياً .

الأدلة على حدوث الطفرات بالخلايا البكتيرية

بالرغم من قيام علماء الوراثة بإجراء دراسات متشعبة على التطفر فى الكائنات الحية الراقية خلال نصف القرن الماضى إلا أن الدراسات على الطفرات البكتيرية التلقائية وغير الموجهة لم يبدأ إلا فى عام ١٩٤٣ عندما قام لوريا ودلبروك Luria & Delbruck بنشر إختبارهما المشهور والمعروف باسم اختبار التذبذبات fluctuation test وتبعهما فى ذلك نيوكومب Newcombe (١٩٤٩) باعطاء دليل آخر على حدوث التطفر التلقائى غير الموجه بالبكتيريا .

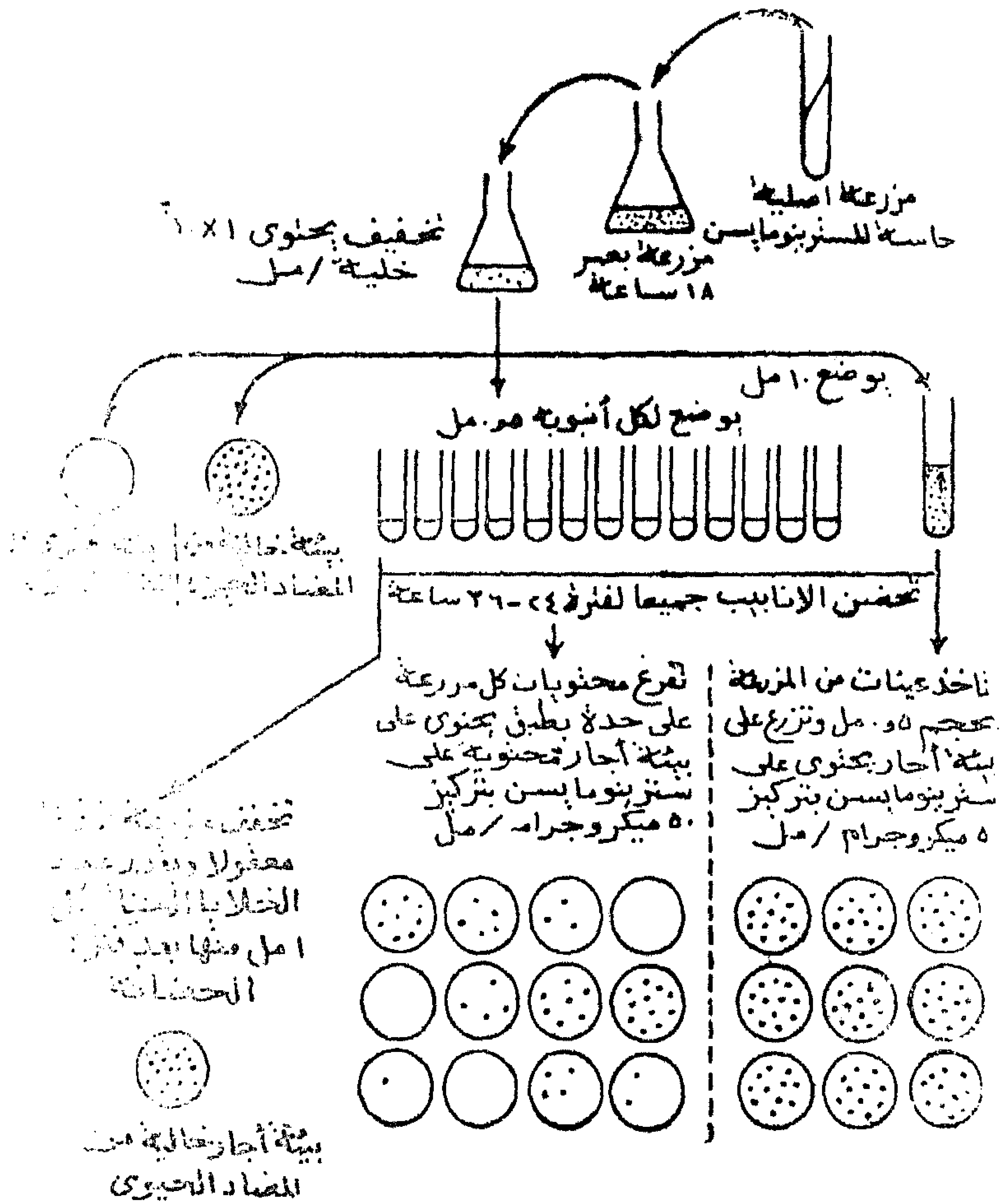
أختبار التذبذبات : fluctuation test

إن تعداد الخلايا المتغيرة التى تتكون فى مجموع بكتيرى معين ممثل فى عدة مزارع متشابهة ومنفصلة يختلف بدرجة واضحة إذا ما قورن بتعداد الخلايا المتغيرة فى نفس المجموع عندما تؤخذ عدة عينات من المجموع النامى فى مزرعة واحدة . ويفترض لوريا ودلبروك فى اختبارهما أن هذه التذبذبات وعدد الخلايا المتغيرة فى المزارع المنفصلة والمتشابهة هى نتيجة لحدوث الطفرات التلقائية فى المجموع وتتلخص خطوات هذا الاختبار فيما يلى :

١ — تحضر مجموعة من الأنابيب الصغيرة كل منها تحتوى على ٥, مل من بيئة سائلة ثم تلقح بكمية صغيرة موحدة من سلالة البكتيريا المراد دراستها ، والمعروفة بحساسيتها للمضاد الحيوى ستربتومايسين . توضع هذه المزارع بالحضان لتنمو الخلايا نتيجة لدرجة معقولة من التعكير للبيئة .

٢ — يقدر عدد الخلايا المقاومة للمضاد الحيوى (الطفرات) والتى

يمكن أن تتواجد فى كل مزرعة على حدة ويجرى ذلك بصب محتويات كل أنبوبة فوق سطح بيئة آجار محتوية على تركيز معلوم من المضاد الحيوى (٥٠ ميكروجرام/مل) . ويمكن مقارنة النتائج المتحصل عليها من هذه التجربة بتلك المأخوذة من عينات متساوية فى الحجم (٠.٥ مل) والتى تؤخذ من مزرعة واحدة تحتوى على نفس عدد الخلايا للمليلتر الواحد . ولتوحيد عدد الخلايا



شكل ٨٤ : رسم تخطيطى يبين الخطوات المتبعة فى اختبار التذبذبات fluctuation test لطفرات البكتيريا *E. coli* المقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين .

تلقح المزرعة الواحدة بكمية متناسبة ومشابهة فى تعداد خلاياها فى الملليلتر الواحد وتترك بنفس الحضان لنفس فترة الحضانة . وشكل ٨٤ يوضح الخطوات المختلفة فى اجراء هذا الاختبار .

والفكرة من الاختبار هى محاولة التحقق من الافتراضات الآتية :

(ا) إذا كانت المستعمرات المشاهدة والمقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين تتكون فقط نتيجة لوجود المضاد الحيوى بالبيئة (عملية تطبع) فانه لا يجب أن يكون هناك اختلافات فى عدد المستعمرات المقاومة للستربتومايسين سواء أخذت العينات من مزارع منفصلة أو من مزرعة واحدة .

(ب) إذا كانت المستعمرات المقاومة للمضاد الحيوى تتكون قبل تعرضها للمضاد الحيوى (تطفر تلقائى) فان المزارع المنفصلة والمتشابهة سوف تعطى نتائج تختلف عن تلك الناتجة من مزرعة واحدة . ومن الملاحظ أن المزارع المستقلة لا تختلف عن بعضها فقط فى عدد المستعمرات الطفرية . ولكنها تختلف أيضاً فى الوقت الذى تحدث فيه الطفرات أثناء نمو هذه المزارع . فمثلا إذا تكونت طفرة واحدة قبل وقت التعريض للمضاد الحيوى مباشرة فان المزرعة سوف تظهر مستعمرة مقاومة واحدة أما إذا تكونت الطفرة قبل وقت التعريض بمدة تقدر بعدة أجيال فان الخلية الواحدة المتطفرة تكون قد أعطت عدداً مختلفاً من الخلايا والتى يعطى كل منها مستعمرة على البيئة المحتوية على المضاد الحيوى . من ذلك نرى أنه حتى إذا تكون فى المزارع المستقلة عدد متساو من الطفرات فانه من المتوقع أن يختلف عدد الخلايا المقاومة بكل مزرعة مستقلة عند وقت التعريض إلى المضاد الحيوى وأن هذا لا يحدث فى العينات التى تؤخذ من مزرعة واحدة حيث أن عدد الخلايا المقاومة يكون فى هذه الحالة متساوياً تقريباً فى كل العينات التى تؤخذ منها .

وقد أظهر التحليل الإحصائى للنتائج التى تحصل عليها لوريا ودلبروك جدول ١٢ أن هذا صحيح حيث كانت جملة الاختلافات variance فى عدد الخلايا المقاومة للمضاد الحيوى فى حالة المزارع المستقلة (٢٩١٣,٩) أى أكبر بكثير منها فى حالة العينات المتشابهة والمأخوذة من مزرعة واحدة (١٥١,١) وهذا يؤيد النظرية الافتراضية بأن الطفرات تحدث تلقائياً بعيداً عن العامل المشجع لنموها أو بمعنى آخر أن ظهور هذه الخلايا المقاومة لا يرجع إلى ظاهرة التطبع .

وقد قام Newcombe (١٩٤٩) باجراء تجربة مماثلة باستعمال البكتيريا *E.coli* لاثبات حدوث التطفرات المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى T_1 تلقائياً . وتمكن من اثبات أن هذه الطفرات تحدث تلقائياً قبل تعريض الخلايا لتأثير الفيرس البكتيرى وأن وجود الفيرس البكتيرى يعمل فقط على انتخاب هذه الطفرات التى تكون قد نشأت من قبل وفى غيابه وبعيداً عنه .

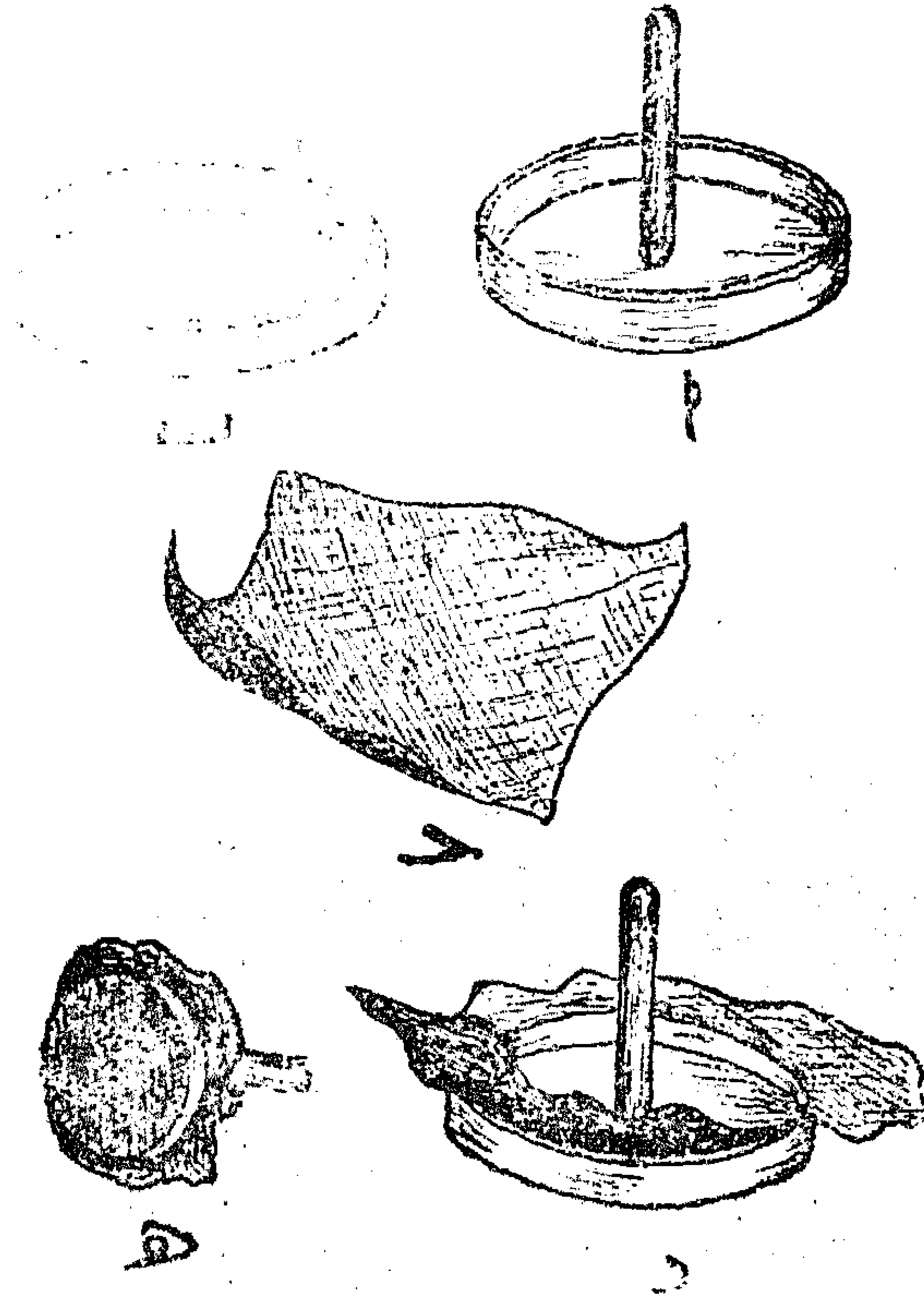
وفيما بعد أوجد Lederberg (١٩٥٢) طريقة بسيطة تعرف بطريقة الإنتخاب غير المباشر indirect selection test أمكن بواسطتها إثبات حدوث الطفرات تلقائياً بعيداً عن الظروف الانتخابية لها (كالمضاد الحيوى أو الفيرس البكتيرى) والتى تمنع تكاثر خلايا الآباء الحساسة وتسمح بنمو خلايا الطفرات المقاومة لها فقط . وحيث أن معظم الطفرات تنشأ بمعدل يتراوح بين ١ × ١٠^-٤ إلى ١ × ١٠^-١٠ كما سبق أن بينا .فانه يلزم منع نمو الخلايا الأصلية الحساسة والكثيرة العدد إذا أريد مشاهدة الخلايا الطفرية قليلة العدد . ولعزل الطفرات التلقائية مباشرة تمكن ليدربرج (١٩٥٢) من إيجاد طريقة بسيطة تسمح بنقل أو بطبع المستعمرات النامية على الطبق الأصلى ، فى نفس مواضعها ، على عدد من الأطباق المحتوية على بيئات انتخابية ، وتعرف هذه الطريقة بطريقة الطبع المتكرر بالأطباق Replica plating . وتتم عملية النقل أو الطبع بالإستعانة بقطعة من قماش

جدول رقم ١٢ : عدد الخلايا المقاومة للاستربتومايسين (٥٠ ميكروجرام / مل) لعينات مأخوذة من مزارع مستقلة ، وعينات مشابهة مأخوذة من مزرعة واحدة .

(تعداد الخلايا بعد النمو فى كل حالة ١,٣ × ١٠^٨ خلية / مل)

عينات المزارع المستقلة				عينات مأخوذة من مزرعة واحدة			
نمرة المزرعة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة المزرعة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة العينة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة العينة	عدد المستعمرات المقاومة
١	٦٧	١١	٥٦	١	١٤٢	١١	١١٠
٢	١٥٩	١٢	٩١	٢	١٥٥	١٢	١٢٥
٣	١٣٥	١٣	١٢٣	٣	١٣٢	١٣	١٣٥
٤	٢٩١	١٤	٩٧	٤	١٢٣	١٤	١٢١
٥	٧٥	١٥	٤٨	٥	١٤٠	١٥	١١٢
٦	١١٧	١٦	٥٢	٦	١٤٦		
٧	٧٣	١٧	٥٤	٧	١٤١		
٨	١٢٩	١٨	٨٩	٨	١٣٧		
٩	٨٦	١٩	١١١	٩	١٢٨		
١٠	١٠١	٢٠	١٦٤	١٠	١٢١		

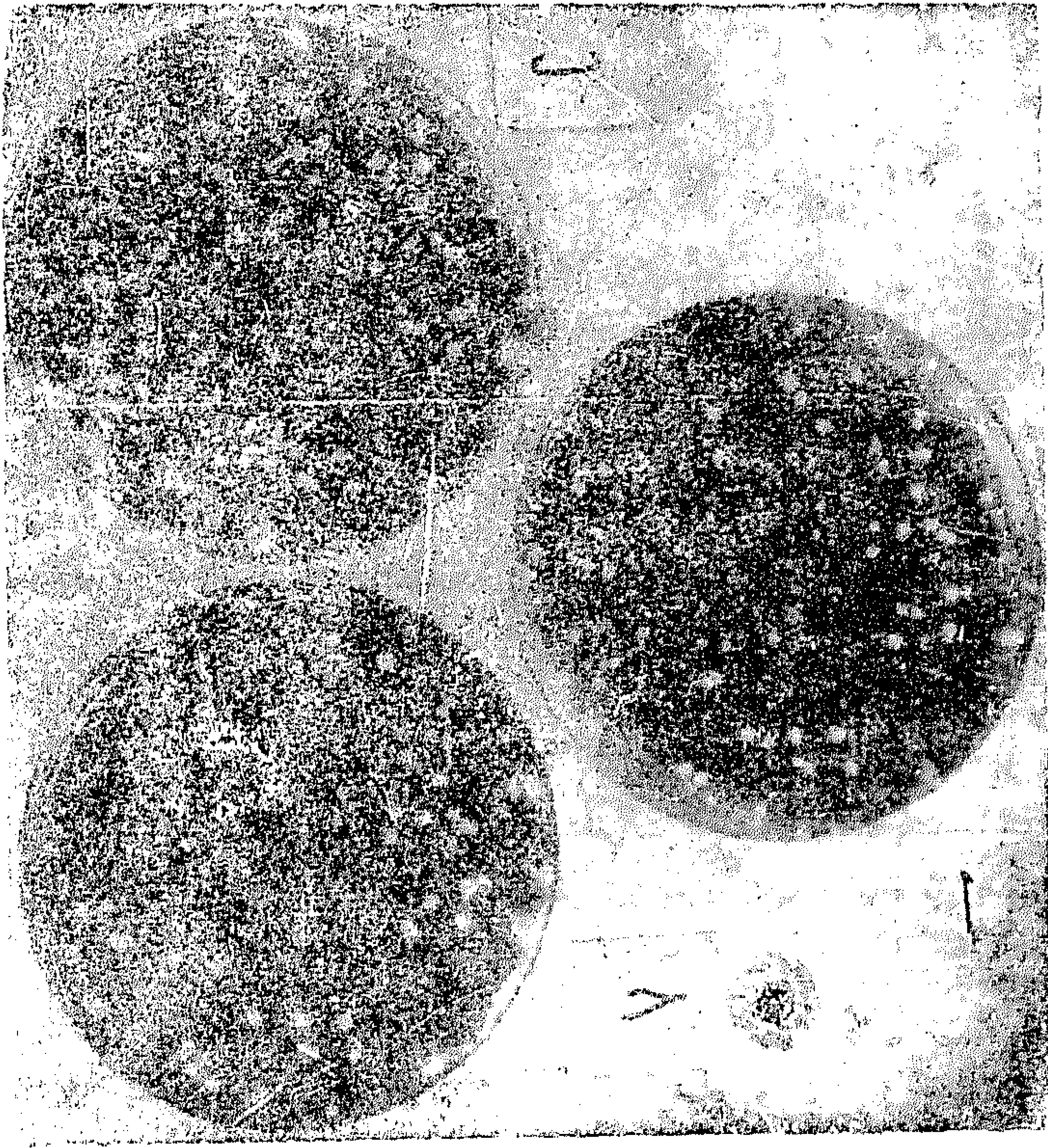
عينات المزارع المستقلة			عينات مأخوذة من مزرعة واحدة		
المتوسط		١٠٥,٩	المتوسط		١٣١,٢
الاختلافات	variance	٢٩١٣,٩	الاختلافات	variance	١٥١,١
اختبار	$(chi)_2$	٥٥٠,٣	اختبار	(chi)	١٧,٣
قيمة P	أقل من	٠,٠٠١	قيمة P		٠,٢٦



شكل ٨٥ : الأجزاء المختلفة لوحدة طبع المستعمرات البكتيرية بطريقة الطبع المتكرر بالأطباق . أ – قرص خشبى يقل قطره قليلا عن قطر طبق بترى . ب – حلقة معدنية لتثبيت قطعة القطيفة جـ بالقرص . د – قطعة القطيفة مثبتة فى وضعها النهائى ، هـ – منظر جانبى لوحدة الطبع .

القطيفة velveteen المعقمة والمثبتة على اسطوانة خشبية أو معدنية ذات قطر أقـل قليـلا من قطـر أطبـاق بترى (شـكل ٨٥) . وتستعمل عادة حلقة مطاطية أو حلقة معدنية لتثبيت قطعة القطيفة جيداً على الاسطوانة . وعندما يوضع القرص فوق سطح الطبق الأصلى تتلاصق كل المستعمرات وتنتقل كمية من كل مستعمرة إلى قطعة القطيفة التى تصبح كأنها نسخة

(أو اكليشه) يمكن طبعه بدون تحريك أو تغيير لوضعه على سطح الآجار فى عديد من الأطباق الأخرى المحتوية على البيئة أو البيئات الانتخابية المرغوبة . والنمو الناتج بالأطباق عقب إجراء التلقيح بهذه الطريقة يسفر عن مستعمرات متطابقة وفى نفس الأماكن التى كانت عليها فى الطبق الأصلى . وعن هذا الطريق أمكن إثبات أن التصنيفات البكتيرية كما سبق أن بينا تحدث نتيجة



شكل ٨٦ : طريقة الطبع المتكرر بالأطباق ، أ — الطبق الأصلى المحتوى على بيئة كاملة . ب — نسخة من الطبق الأصلى على نفس البيئة ، حـ — نسخة من الطبق الأصلى على بيئة الحد الأدنى . (الأسهم فى طبق ب تشير إلى مستعمرات (auxotrophic) لم تظهر على بيئة الحد الأدنى فى الطبق حـ . لاحظ وجود هذه المستعيرات بالطبق الأصلى أ . وهذا يبين أن المستعمرات المشار إليها بالأسهم فى الطبق ب و لم تنمو على بيئة الحد الأدنى بالطبق حـ — مستعمرات طفرية ناقصة القدرة التخليقية (auxotrophs) .

للتطفر التلقائى وأن هذه الطفرات تنشأ مستقلة عن الظروف البيئية التى تتناسب مع تأقلمها . فمثلا إذا نما مجموع بكتيرى حساس لتأثير الفيرس البكتيرى على بيئة الآجار المغذى ثم لقحت مستعمراته بطريقة الطبع المتكرر على بيئة تحتوى على الفيرس البكتيرى ، فان المستعمرات المقاومة لتأثيره تظهر على سطح البيئة وتكون فى مواضع متطابقة مع تلك التى يمكن الرجوع إليها ومقارنتها بالطبق الأصلى فى غياب الفيرس البكتيرى . ويمكن عقب ذلك عزل سلالات مقاومة للفيرس البكتيرى من الطبق الأصلى والتى تكون نامية على بيئة الآجار المغذى الخالية من الفيرس (شكل ٨٦) .

الآن وقد استعرضنا الأدلة على أن الطفرات تنشأ تلقائياً فى الطبيعة ، قد يتساءل البعض عن السبب فى حدوثها ؟ وفى الحقيقة يعرف القليل عن سبب حدوث ظاهرة التطفر mutagenesis بالطبيعة إلا أن هناك عدة تكهنات من أهمها وجود الإشعاعات الطبيعية وبخاصة الأشعة الكوزمية Cosmic rays (٢٠٠ — ٢٥٠ ميلى ميكرون) والتى تصل إلى سطح الأرض. وكذلك قد يكون للتقلبات الجوية من حرارة ورطوبةوجفاف تأثيرعلى التوازن فى كمية الطاقة التى تميز العوامل الوراثية فىالخلايا مما يؤدىإلى تغييرها وبالتالى حدوث الطفرات .

الأساس الجزيئ للتطفر

من المعروف من الناحية البيوكيمائية أن الطفراتالتلقائية تنشأ فى المجموع البكتيرى نتيجة لحدوثتغييرات فى تنظيمجرئيات الا DNAفىالخلية المتطفرة. فعلى سبيل المثال قد تستبدل بعضالقواعد البيورينية أوالباريميدينية الأصلية بقواعد أخرى فى جزىء الـ DNA فىالخلية المتطفرة وقد يحدث التطفر أيضاً نتيجة لاستبعاد واحدمن النيوكليوتيدات المكونة لسلسلة الـDNA أو نتيجة لكسر ولحام جين معين وإستبعاد جزء منهعقب الإلتحام. وقد تحدث

الطفرات أيضاً نتيجة لإضافة نيوكليوتيدات جديدة إلى سلسلةالـ DNA المكونة للجين مما يؤدى إلى تغيير تتابعها المعتاد بداخل الجين . والإضافة أو النقص فى النيوكليوتيدات يؤثر عند تكاثرسلاسل DNA مما ينتج عنه شفرة جديدة .

كما قد يحدث فى بعض الأحيان أخطاء غير مقصودة أثناء تضاعف سلاسل الـ DNA تؤدى إلى تغيير فى تركيبه . هذا ومعدل حدوث مثل هذه التغييرات فى تركيب جزىء الـ DNA يتوقف كثيراً على الظروف البيئية مثل درجة الحرارة وقيمة الـ pH وتركيب بيئة الزرع وما إلى ذلك . كما أن معدل حدوث مثل هذه التغييرات قد يزداد نتيجة للتعرض إلى واحد أو أكثر من العوامل التطفرية السالفة الذكر . هذا والتعرض للإشعاعات مثل الأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية قد يؤدى إلى حدوث روابط كيمائية لم تكن موجودة أصلا بين النيوكليوتيدات المتجاورة فى سلاسل جزىء الـ DNA . فعند إرتباط إثنين من القواعد البايريميدنية والمكونة لسلسلة الـ DNA ينشأ عن ذلك ما يعرف بالثنائيات dimer ويعتبر المركب ثنائى الثيمين أكثرها حدوثاً وهو المادة التى تعترض فعل الإنزيم الهام DNA polymerase ونتيجة لذلك تمنع عملية تضاعف سلاسل الـ DNA .

وقد سبق لنا أن بينا فى مكان آخر من هذا الكتاب أن الضوء المرئى بمكنه أن يعكس الفعل الضار للأشعة فوق البنفسجية للخلايا البكتيرية بما يعرف بظاهرة التنشيط الضوئى .

وعوامل التطفر الكيمائية قد تؤثر على أحد قواعد البيورينات أو البايريميدنات فتمنع ازدواجها مع القاعدة المكملة عند تضاعف سلاسل DNA فعلى سبيل المثال فان المعاملة الكيماوية قد تغير من خواص الرابطة الهيدروجينية فى قواعد الـ DNA وان هذه الروابط الهيدروجينية تعتمد على المجاميع الأمينية والكربوكسيلية فى البيورينات والبايريميدنات اذن فأى تغيير فى هذه الروابط الهيدروجينية يؤدى إلى زيادة احتمال حدوث التطفر .

وهناك بعض المواد الكيماوية البسيطة التطفرية لها قدرة على احداث تحوير فى قواعد الـ DNA الخلوى ومن أمثلها حمض النتروز (يد ن ا٢) فهى تعمل على إزالة مجاميع الأمين بطريقة تأكسدية وبذلك تحدد قابليتها للإزدواج . فمثلا عند إزالة مجاميع الأمين من مركب الأدنين يتحول إلى مركب آخر هو هيبوزانثين Hypoxanthin وهذا يفقد قدرته على الإزدواج مع الثايمين .

وهناك بعض المواد الكيماوية التى تشبه القواعد الأساسية من البيورينات والبايريميدنات وهى بذلك قد تدخل فى تركيب الـ DNA بدلا من القواعد الأصلية بطريق تنافسى . وحيث أن المواد المشابهة هذه ليس لها نفس الخواص الموجودة فى القواعد الأصلية فان DNA لا يتضاعف بطريقة طبيعية وبذلك تتوقف الخلية عن النمو نتيجة لتكوين طفرات مميتة . ومن أمثلة هذه المواد مادة بروموبوراسيل 5 Bromouracil الشبيهة بقاعدة الثايمين وهى تستعمل فى معالجة الأورام السرطانية .

وقد يستفاد من هذه المعلومات فى إختبار قدرة المواد الكيماوية على إحداث السرطان . فالمادة الكيماوية التى لها القدرة على إحداث التطفر يعتقد ضمنياً انها قادرة على إحداث السرطان .

ومن المعروف أن إختبار القدرة الكامنة لمركب لينتج السرطان فى حيوانات التجارب من ٢ ــ ٣ سنوات ويتكلف حوالى ١٠٠٠٠٠ دولار . وحديثاً إبتكر الدكتور بروس إيمز Dr. Bruce Ames بجامعة كاليفورنيا ببركلى إختبار بسيط لمعرفة القدرة الكامنة فى مادة كيماوية لتحدث السرطان . ويستغرق هذا الإختبار ثلاثة أيام ويتكلف حوالى ٢٠٠ دولار . ويمتاز هذا الإختبار بالسهولة والسرعة والحساسية وقلة التكاليف .

والإختبار مبنى على حقيقة وهى أن التغيير فى الـ DNA لطفرة يمكن أن يحدث وتتحول إلى خلية تشبه الخلية الطبيعية الأصلية أن الطفرة ترتد .

وثبت تجريبياً أن أكثر من ٩٠ ٪ من المواد المختبرة والتى تحدث السرطان تعتبر أيضاً عوامل تطفر .

ويتم إختبار إيمز ببساطة بتقدير المعدل الذى ترتد عليه طفرات محتاجة غذائياً Auxotrophs (تحتاج إلى الهيستدين) إلى السلالة الأصلية غير المحتاجة غذائياً prototrophe من بكتيريا تابعة للـ Salmonella فى وجود وغياب المادة المختبرة . وأن الإختبار يعطى أيضاً فكرة عن قدرة المادة فى إحداث الطفرات وبالتالى مدى الخطورة الكامنة فى هذه المادة عن طريق تقدير عدد الخلايا المرتدة المتكشفة فكلما كانت قدرة العامل التطفرى كبيرة فانه يزداد عدد الخلايا المرتدة .

ويجب إجراء إختبارات أخرى على العوامل التطفرية والتى يفترض أنها عوامل سرطانية للتأكد من ذلك فى الحيوان . وقد إختبر الدكتور إيمز أكثر من ٣٠٠ مركب كيماوى لإختبار قدرتها على أن تحدث طفرات بعض منها فى الجدول رقم ١٣ .

جدول رقم ١٣ : إختبار بعض المواد الكياوية لنشاطها التطفرى أو السرطانى .

المـــادة	استعمالهـا	إختبار إيمـز (تطفرى)	الإختبار فى الحيـوان
كلوريد الفينيل	الصناعة الكياوية	+	+
كابتـان	مبيد فطرى	+	+
ديـلدريـن	مبيد حشرى	—	+
سيفـين	مبيد حشرى	—	—
السجاير (دخان مكثف)	للمتعـة	+	+
فينوباربيتـال	عقـار	—	ضعيف
نيكوتين	دخـان	—	—
كافـايـين	الـبن	—	تحت الإختبار
كبريتات الأتروبين	فى الطب	—	تحت الإختبار
Medium golden (Brown No. 612)	صبغة شعر	+	لم يختـــبر
Moon Haze No. 32.	صبغة شعر	+	لم يختـــبر

معدل التطفر : Mutation rate

إن المعدل الذى يحدث عليه التطفر التلقائى يكون عادة ثابتاً لأى صفة من صفات النوع البكتيرى الواحد . وعادة يعبر عن معدل التطفر التلقائى كما يلى (معدل التطفر / خلية بكتيرية / دورة إنقسامية) . ولما كان معدل التطفر أو معدل تغير صفة من الصفات (جين من الجينات) يكون أيضاً ثابتاً باستمرار فالمعدل الذى يحدث عليه التطفر فى صفة من الصفات يعتبر فى حد

ذاته من الصفات الوراثية ويكون متوقفاً على الجين المسئول فى التركيب الوراثى للكائن المتطفر .

وقد إتبع لوريا ودلبروك (١٩٤٣) طرقاً حسابية لتقدير معدل التطفر وذلك على أساس :

١ — إستعمال مزارع ناتجة عن خلايا من سلالات غير متطفرة Wild type

٢ — حاول الإحتفاظ بالمزارع فى الطور اللوغاريتمى عن طريق إجراء تخفيفات متتالية .

٣ — يجب أن يتساوى معدل نمو الخلايا الأبوية غير المتطفرة مع معدل نمو خلايا السلالات الطفرية .

٤ — استبعد كلية إحتمال حدوث طفرة رجعية back—mutation

إذا بدأنا تحت الظروف المذكورة بعدد من خلايا من الطراز الطبيعى يقدر بـ (ا) فإن نسبة الطراز التطفرى فى هذا المجموع = صفر . فإذا إفترضنا أن التطفر يحدث فى هذه الخلايا على معدل = م . فإن مجموع الخلايا بعد جيل واحد سيصبح ٢ا ويوجد ضمن هذا العدد من الخلايا عدد ٢ام خلية طفرية وبذلك يكون عدد الخلايا الطبيعية = ٢ا — ٢ام وبالتالى تكون

نسبة الخلايا الطفرية بعد جيل واحد = $\frac{\text{٢ ا م}}{\text{٢ ا}}$ = م

ونظراً لأن م عددها بسيط فيمكن تجاهلها ونعتبر أن ٢ا — ٢ام = ٢ا تقريباً . ولذلك يمكن إعتبار ٢ا ممثلا لعدد الخلايا الطبيعية .

وإذا استمر الإنقسام إلى الجيل الثانى فإن المجموع الكلى سيكون ٤ا ويصبح عدد الخلايا الطفرية ٤ ا م وذلك بالإضافة إلى ما كان موجوداً أصلا ونتيجة لإنقسام ٢ ا م طفرة خلال الجيل الأول سيصبح ٤ ا م .

وبذلك تصبح نسبة الخلايا الطفرية فى المجموع = $\frac{\text{٤ ا م} + \text{٤ ا م}}{\text{٤ ا}}$

$= \frac{\text{٤ ا (م + م)}}{\text{٤ ا}}$

= ٢ م

بعد الجيل الثالث سيكون العدد الكلى للخلايا = ٨ ا وستكون هناك ٨ ا م خلية طفرية ناتجة عن التطفر الجديد بالإضافة إلى ١٦ ا م خلية طفرية ناتجة عن انقسام الخلايا الطفرية القديمة وبذلك تصبح نسبة الخلايا الطفرية فى المجموع

$= \frac{\text{٨ ا م} + \text{١٦ ا م}}{\text{٨ ا}}$

$= \frac{\text{٨ ا (م + ٢م)}}{\text{٨ ا}} = \text{٣م}$

وبعد ٤ أجيال ستكون النسبة

$= \frac{\text{١٦ ا م} + \text{٤٨ ا م}}{\text{١٦ ا م}} = \text{٤ م}$

وبعد ن من الأجيال فإن نسبة الخلايا الطفرية للمجموع ستكون م × ن (عدد الأجيال) وتصبح المعادلة النهائية كالآتى :

معدل التطفر (م) = $\frac{\text{نسبة الخلايا الطفرية}}{\text{عدد الأجيال}}$

وعدد الأجيال يمكن تحديده بسهولة فى المزرعة كما سبق وحيث أن استعمال اللوغاريتم الطبيعى للرقم ٢ يعتبر كعامل مصحح لمتوسط عدد الخلايا بالمجموع ونظراً لأنه فى بعض الأحيان يتعذر الحصول على مجموع خالى تماماً من الطفرات فيفترض انه بدأ بمجموع (ا١) يحتوى على (م١) من الطفرات وانتهينا بمجموع (ا٢) يحتوى على (م٢) من الطفرات فتعدل المعادلة مع ضرب الناتج فى معامل للتصحيح هو لط٢ (= اللوغاريتم الطبيعى للرقم ٢) .

معدل التطفر (م) = ٢ لط ٢ ($\frac{م٢}{ا٢} - \frac{م١}{ا١}$) / ن

حيث لط = اللوغاريتم الطبيعى

م١ ، م٢ = عدد الطفرات عند الوقت ١ ، ٢

ا١ ، ا٢ = العدد الكلى للخلايا عند الوقت ١ ، ٢

ن = عدد الأجيال .

ولتقدير معدل التطفر نعود مرة أخرى للإشارة إلى إختبار التذبذبات فى عدد الخلايا الطفرية فى حالة المزارع المستقلة عقب تعريضها للمضاد الحيوى ستربتومايسين ، فاذا تجاهلنا عدد المستعمرات فى كل طبق يمكننا إذن أن نتلافى الأخطاء التجريبية التى يمكن حدوثها نتيجة للإختلاف فى معدلات النمو بين الطفرات المختلفة والتى تؤثر على تأقلم كل منها فى المجموع الأصلى . والذى يهمنا فى هذه الحالة معرفة ما إذا كان قد تكون بالمزرعة طفرات أم لا بصرف النظر عن عددها أو ناتج نموها فى كل طبق . وبناء على ذلك فاذا علمنا العدد المبدئى initial number للخلايا بكل مزرعة عند تعريضها لتأثير المضاد الحيوى وكذلك نسبة المزارع التى لم يحدث بها طفرات إلى العدد الكلى للمزارع ، فان مثل هذه المعلومات البسيطة تكون كافية لحساب معدل التطفر « ا » لكل خلية بكتيرية ولكل دورة انقسامية تبعاً لمعادلة لوريا ودلبروك Luria & Delbruck (١٩٤٣) .

ا = (لط ٢) (لط ب) / ن

حيث ب = نسبة المزارع التى لم يتكون بها طفرات

ن = متوسط عدد الخلايا فى كل مزرعة بعد فترة النمو وقبل التعريض لتأثير المضاد الحيوى .

لط = اللوغاريتم الطبيعى .Natural log (يستعمل القاعدة ٢,٧١٨ بدلا من القاعدة ١٠) .

وقد أوجد نيكومب Newcombe (١٩٤٨) معادلة أخرى لحساب معدل التطفر لأى صفة من الصفات ولتقدير معدل التطفر بهذه الطريقة تشترط معرفة عدد الطفرات بكل مزرعة فى مجموعة من المزارع المستقلة وتستعمل هذه المعادلة فقط عندما تتساوى معدلات نمو كل من السلالات الطفرية والسلالة الأم (الأصلية) فى البيئة الغذائية المستعملة .

وهذه المعادلة كما يلى :

$$ر = \left(\frac{ا\ ن}{لط\ ٢} \right) لط \left(\frac{ك\ ا\ ن}{لط\ ٢} \right)$$

حيث أن : ر = متوسط عدد الطفرات بكل مزرعة .

ا = معدل التطفر لكل خلية بكتيرية لكل دورة انقسامية .

ن = متوسط عدد الخلايا بكل مزرعة بعد انتهاء النمو وقبل التعرض لعامل الانتخاب (المضاد الحيوى) .

ك = عدد المزارع المستعملة .

لط = اللوغاريتم الطبيعى .

إن تعريف معدل التطفر الذى يحسب لكل خلية بكتيرية لكل دورة انقسامية يشترط حدوث الانقسام الخلوى لحدوث الطفرات . إلا أن الدراسات الحديثة التى قام بها نوفيك ، وسيزلارد Novic and Szilard (١٩٥٠) بالاستعانة بجهاز خاص للنمو يطلق عليه اسم chemostat مكنت من إثبات أن معدل النمو فى حالة واحدة فقط كان معتمداً على الوحدة الزمنية unit time أكثر من اعتماده على الوقت الجيلى . وهذا يعنى أن معدل التطفر يكون ثابتاً فى خلال وقت معين بصرف النظر عن عدد الدورات الانقسامية التى تكون قد حدثت أثنائها .

وجهاز chemostat هذا مصمم على أساس الاحتفاظ بالخلايا فى

طورها اللوغاريتمى باستمرار أو بمعنى آخر فأنه يعمل على تأجيل حلول الطور الثابت وذلك بتوفير البيئة الطازجة باستمرار للمزرعة ومعادلة الاختلافات فى قيمة الـ pH علاوة على توفير كل الظروف البيئية التى من شأنها إستمرار النمو النشط باضطراد كونها ناتج انقسام خلية بكتيرية حدث لجهازها الوراثى تغيير معين . وأن عدد الخلايا المتغيرة يتضاعف نتيجة للانقسام .

هذا وقد لوحظ أيضاً أنه يمكن للطفرات أن تحدث فى الخلايا المتوقفة عن الانقسام resting cells كما يحدث للخلايا المستريحة من البكتيريا *Sarcina marcescens* والتى تنتج طفرات مختلفة من ناحية إنتاجها للمواد الملونة، وإلى الآن لا يمكننا تعميم هذه النتائج الفردية على الطفرات عموماً .

أنواع الطفرات البكتيرية

لقد أمكن التعرف على عدة أنواع من الطفرات البكتيرية درس بعضها بالتفصيل فى حين أن البعض الآخر لازال غير مدروس بالدرجة الكافية .

١ — الطفرات البيوكيمائية : Biochemical mutants

وتشمل هذه المجموعة من الطفرات تلك التى تكون قد فقدت القدرة على تخليق مادة أو أكثر من المواد الايضية الهامة biochemically deficient mutants ولتنمية هذه الطفرات بالمعمل يشترط اضافة المواد الايضية التى لا تقدر الخلايا على تخليقها إلى بيئة الزرع .

وتتبع الطفرات البيوكيمائية أيضا تلك التى تظهر مختلفة عن السلالات الأصلية فى لون المستعمرات أو فى القدرة على افراز مواد تلوينية pigment-ation mutants والتى يسهل تمييزها عن السلالات الأصلية عن طريق ألوانها المختلفة والطفرات التخمرية والتى تختلف فى صفاتها التخمرية والأخرى التى تختلف فى صفاتها السيريولوجية عن السلالات الأصلية يمكن ادراجها ضمن الطفرات البيوكيمائية أيضاً .

٢ – طفرات مقاومة للعوامل المميتة أو السامة أو الموقفة للنمو :

Mutants resistant to inhibitory agents.

وتشمل الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية والمواد الكيماوية السامة ، والطفرات المقاومة لتأثير الاشعاعات وتلك المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى .

٣ – طفرات تختلف عن السلالات الأصلية فى الصفات المظهرية لمستعمراتها.

١ – **الطفرات البيوكيمائية :** Biochemical mutants

(أ) الطفرات ناقصة القدرة البيوكيمائية التخليقية :

Biochemically deficient mutants

معظم الدراسات التى أجريت على الطفرات البكتيرية عموماً تمت بأستعمال البكتيريا *Escherichia coli* ، وذلك لسرعة نموها وقدرتها على النمو فى البيئات البسيطة التركيب والتى تعرف بأسم بيئة الحد الأدنى minimal medium والتى تتركب من : سلفات أمينيوم وسكر الجلوكوز وبعض الأملاح المعدنية الأخرى ، وهذا يسهل كثيرا من ملاحظة أى تغيير يطرأ على إحتياجاتها الغذائية. فهذه البكتيريا تستعمل فى دراسة وراثة البكتيريا تماماً كذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) أو فطر *Neurospora* ، فى دراسة الوراثة بالكائنات الأكثر رقياً . والاحتياجات الغذائية البسيطة للسلالات البرية wild strains من من هذه البكتيريا تعتبر انعكاساً لقدرتها العالية على تجهيز كل مكوناتها البروتوبلازمية من أحماض أمينية ، وأحماض نووية وفيتامينات عن طريق عديد من النظم الأنزيمية المختلفة ، فإذا تغير أحد الجينات التى تتحكم فى أحد هذه النظم الأنزيمية بدرجة لا تسمح لها بالقيام بالتفاعلات التخليقية اللازمة فان الطفرة المتكونة حينئذ تتطلب اضافة ناتج تفاعل هذا النظام الأنزيمى إلى البيئة لكى يستمر النمو . والطفرات ذات القدرة التخليقية الناقصة يطلق عليها اسم auxotrophes تمييزاً لها عن السلالة الأصلية أو البرية التى نشأت منها والقادرة على النمو فى بيئة الحد الأدنى والتى يطلق عليها اسم prototrophes .

وإذا حدث التعطل الأنزيمى الوراثى genetic block عند موضع جين واحد فقط فان الطفرة الناتجة يمكنها أن تقوم بالتفاعلات الأخرى المحكومة بالجينات الأخرى التى لم تعطل حيث يمكن للخلية أن تستعمل المواد الناتجة أو المواد الوسطية لسلسلة التفاعلات التى تسبق الجين المتعطل وراثياً والذى تتكدس عنده المواد الوسطية .

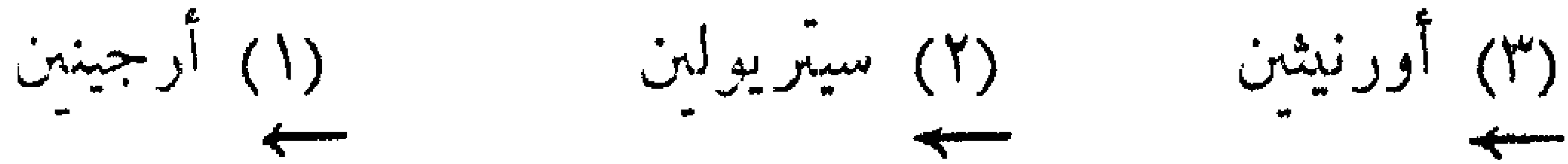
وباستعمال الطفرات ناقصة القدرة التخليقية والمعطل نشاطها الكيماوى الحيوى عند خطوات مختلفة من سلسلة التفاعلات الأيضية أمكن التعرف على الخطوات الحقيقية فى تخليق كثير من المواد الأيضية الحيوية بداخل الخلايا . ومن الأمثلة فى هذا الصدد دراسة طفرات البكتيريا *Escherichia coli* والتى تحتاج إلى اضافة الحمض الأمينى أرجينين arginine إلى بيئة الحد الأدنى . وبعض هذه الطفرات تنمو فقط إذا أضيف الأرجينين إلى بيئة الحد الأدنى وأخرى تنمو إذا استبدل الأرجينين بالسيتريولين citruline أو الأورنيثين ornithine . وباجراء هذه التبديلات يمكن الحصول على نتائج مثل تلك المبينة (بالجدول رقم ١٤) .

جدول رقم ١٤ : نمو طفرات البكتيريا *E.coli*
المحتاجة إلى حمض الأرجينين الأمينى

نمرة الطفرة	المواد المضافة إلى بيئة الحد الأدنى		
	أرجينين	سيتريولين	أورنيثين
١	+	—	—
٢	+	+	—
٣	+	+	+

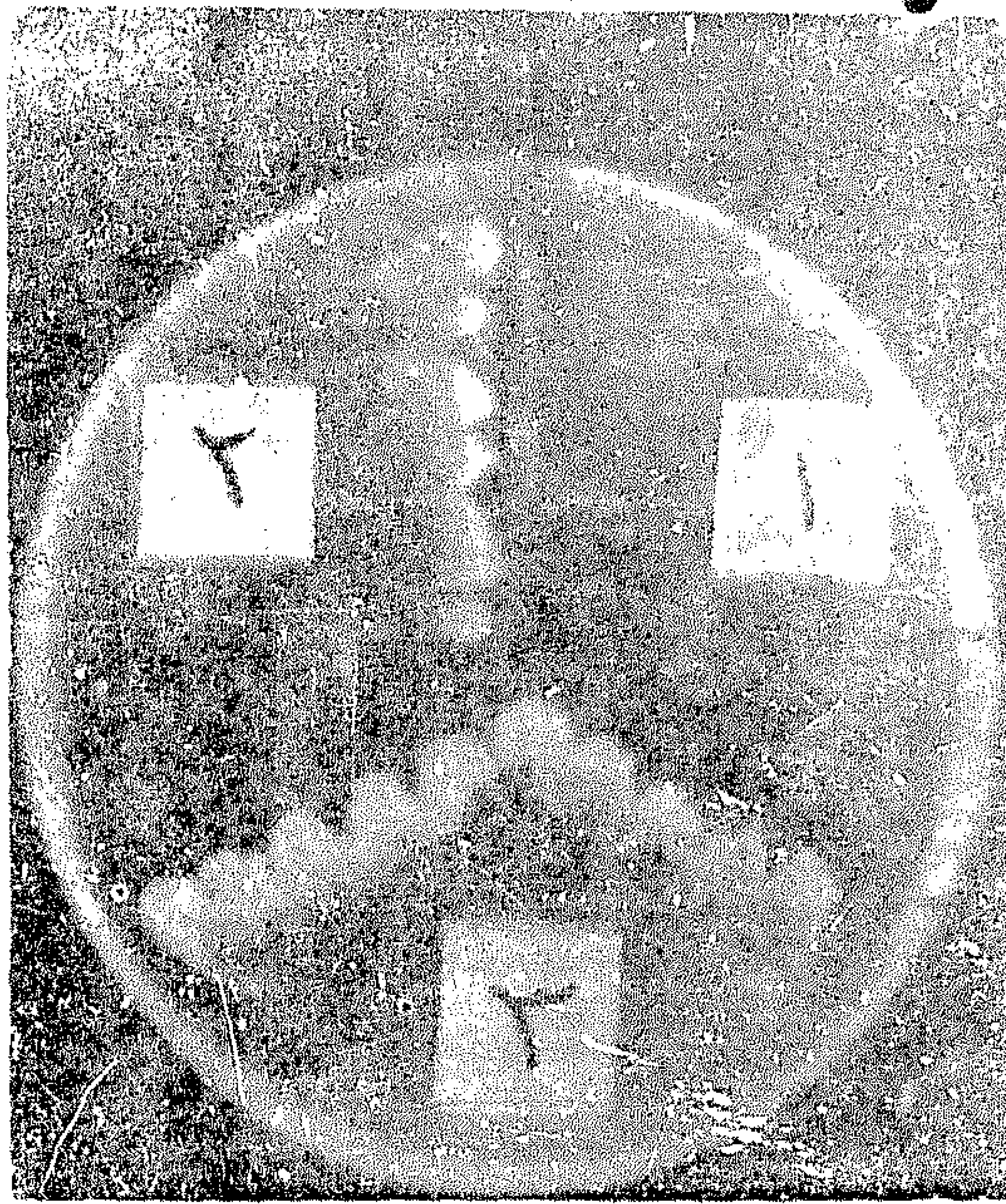
(+ يوجد نمو ، — لا يوجد نمو)

وعلى ضوء النتائج المبينة (بالجدول رقم ١٣) يمكن اقتراح طريقة تخليق حمض الأرجينين الأمينى حيوياً بداخل هذه الخلايا . فمثلا الطفرة «رقم ١» يبدو أن جهازها التخليقى معطل فى الخطوة التى تسبق تكوين الأرجينين مباشرة. والطفرة «رقم ٢» تكون معطلة مباشرة قبل تكوين السيتريولين . والطفرة «رقم ٣» تكون معطلة قبل تكوين الأرونيثين مباشرة كما يلى :



وطريقة استبدال المواد المضافةإلى بيئة الحد الأدنى تستعمل بكثرة لمعرفة خطوات تخليق المواد الأيضية المختلفة ، لا تستعمل فيها الطفرات البكتيرية فقط بل تستعمل فيها أيضاً السلالات أو الأنواع أو الأجناس البكتيرية المختلفة وبخاصة بكتيريا حمض اللاكتيك .

ويمكن أيضاً التأكد من صحة الخطوات التخليقية المقترحة بأستعمال الطفرات الناقصة القدرة البيوكيمائية أو المعطلة القدرة التخليقية عند خطوات مختلفة . فعند الزرع المختلط لهذه الطفرات . نتوقع أن طفرة من هذه الطفرات يمكنها أن تكدس مواد تفاعل الأنزيم المعطل بها وأن هذه المواد يمكنها أن تستعمل بواسطة طفرة أخرى يكون أنزيمها معطلا عند خطوة أخرى سابقة لها وهكذا وتعرف هذه الظاهرة باسم Syntrophism وهذه الظاهرة يمكن ايضاحها بالتجربة البسيطة التالية . إذا لقحت كل من الطفرات المذكورة (بالجدول رقم ١٤) على بيئة الحد الأدنى المحتوية على كمية بسيطة جداً من الأرجينين تسمح بظهور نمو ضعيف من الطفرات الثلاث وذلك بعمل تخطيط مزدوج لكل طفرة فى ثلث الطبق المستعمل بحيث تتجاور الطفرات الثلاث كما هو مبين (بشكل ٨٧). يلاحظ غزارة نمو أحد الطفرات عندما تنمو مجاورة للطفرة الأخرى ، ويعزى غزارة النمو هذه إلى أحد الطفرات تعمل على تغذية الطفرة الأخرى بالمواد التى تكدسها . فمن (الشكل ٨٧) نلاحظ أن الطفرة «رقم ٣» تستغل المواد المكدسة الناتجة عن نمو كل من الطفرات «١ ، ٢» والطفرة



شكل ٨٧ : ظاهرة Syntrophism

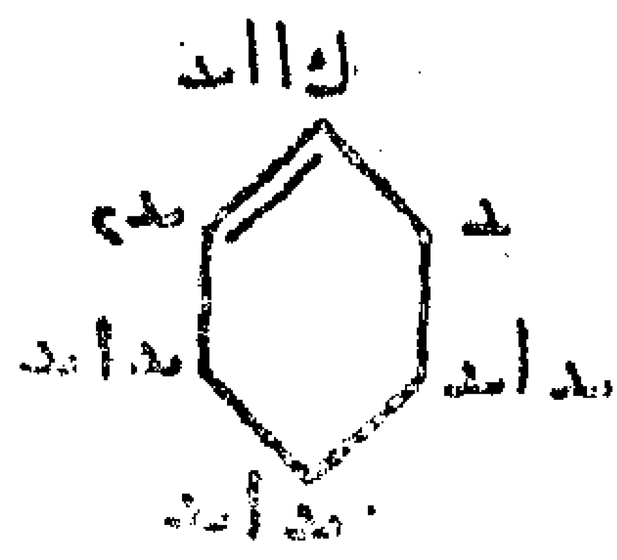
«رقم ٢» تستفيد فقط من المواد التى تكدسها الطفرة «رقم ١» . من ذلك نرى أن الطفرة «رقم ١» هى أكثر الطفرات قدرة على تكديس المواد التى يمكن للطفرات الأخرى استعمالها . ويعقبها فى ذلك الطفرة «رقم ٢» ، فى حين أن الطفرة «رقم ٣» تعتبر اضعفها فى هذا الصدد . من ذلك يمكن التحقق من أن السيتريولين ، والأورنيثين تعتبر من المواد الوسطية فى التخليق الحيوى للارجينين .

وهناك طفرات بكتيرية متعددة المطالب polyauxotrophic بمعنى أنها تتطلب لنموها اضافة أكثر من مادة واحدة ، مثل الطفرات التى تحتاج إلى اضافة مادتين وتعرف بالطفرة المزدوجة المطالب double ، أو الثلاثية triple أو الرباعية quadriple . ومن أمثلة ذلك تلك التى تفتقر إلى المركبات الحلقية aromatic ring compounds كما هو مبين (بالجدول رقم ١٥) والذى يبين أربع طفرات متعددة المطالب الغذائية .

جدول رقم ١٥ : الاحتياجات الغذائية لطفرات *E. colii* المتعددة المطالب

رقم الطفرة	نوع الطفرة	نمو سريع باضافة					حمض الشيكيميك بدل شغل
		تايروسين ١	فينيل الانين ٢	تربتوفان ٣	بارا-أمينو بنزويك ٤	بارا هيدروكسى بنزويك ٥	
١	مزدوجة	+	+	—	—	—	—
٢	ثلاثية	+	+	+	—	—	—
٣	رباعية	+	+	+	+	—	٤،٣
٤	خماسية	+	+	+	+	+	٥،٤،٣

وقد وجد أن حمض الشيكيميك shikimic acid يمكن الاستعاضة به عن كل من التربتوفان ، وحمض البارا-أمينو بنزويك فى كل من الطفرات «رقم ٣ ، ٤» . من ذلك أمكن معرفة أهمية حمض الشيكيميك فى تحولات البكتيريا الأيضية كما أمكن التعرف على خطوات تخليقه بالخلايا . وبالرغم من وجود بعض الصعوبات فى أتباع مثل هذه الطريقة للتعرف على الخطوات التخليقية لبعض المواد كاحتمال حدوث ارتداد للطفرات reversibility of mutations أو حدوث توقف للنمو نتيجة للتنافس الذى قد يتم بين المواد الوسطية المتشابهة كيماوياً ، أو فى عدم الثبات الكيماوى لبعض المركبات الوسطية المتكونة ، ألا أن أتباعها يعتبر من الطرق التجريبية القياسية فى الدراسات الوراثية أو البيوكيمائية فى البكتيريا .



حمض الشيكيميك

Shikimic acid

وتطلب السلالة الطفرية إضافة أكثر من مركب في البيئة الغذائية يعني أن حدوث التطفر قد حدث نتيجة لتغيير تم في أكثر من زوج واحد من الجينات المختلفة وقد كان لدراسة الاحتياجات الغذائية للطفرات الثنائية الثلاثية والرباعية أهمية كبيرة في دراسة ظاهرة العبور crossing over وإعادة تشكيل الصفات الوراثية recombination في البكتيريا كما سنبين فيما بعد .

(ب) الطفرات التلوينية : Pigmentation mutants

يمثل هذا النوع مجموعة من الطفرات البيوكيمائية والتي يسهل التعرف عليها من مظهرها الخارجي المميز . فقد لاحـــظ بنتنج Bunting (١٩٤٦) الاختلافات في انتاج المواد الملونة في البكتيريا *Sarcina marcescens* كما لاحظ لنكولن Lincolin (١٩٤٧) نفس الاختلافات التلوينية في طفرات البكتيريا *Xanthomonas stewartii* وأثبت كل منهما أن هذه الاختلافات تحدث على معدلات تطفرية ثابتة .

وفي المعتاد نلاحظ تأثر صفة التلون بالتغيرات في الظروف البيئية ، فمثلا قد تؤدي الاختلافات في قيمة pH البيئة إلى ظهور اختلافات تلوينية واضحة وفي هذه الحالة تحدث هذه الاختلافات في لون كل المستعمرات النامية على البيئة طالما كان العامل المسبب للاختلاف سائداً إلا أنها تعود إلى لونها الأصلي بمجرد زوال العامل المسبب . أما في حالة الاختلافات التلوينية الناتجة عن التطفر فان الاختلاف في اللون يحدث فقط في مستعمرات فردية في حين أن باقي المستعمرات تظل بلونها الأصلي . ويلاحظ أيضاً أن إختـــلاف اللون يظل ثابتاً في الأجيال المتعاقبة والناتجة عن نمو المستعمرة المختلفة اللون .

ومعدل حدوث الطفرات التلوينية يختلف بدرجة كبيرة فهو عادة يكون مرتفع جداً . ويتراوح الاختلاف في معدل التطفر اللوني بين ١ × ١٠^{-٣} إلى ١ × ١٠^{-٧}).

وتفتقر الطفرات التلوينية عادة إلى الثبات حيث أنها ترتد إلى أصلها بعد عدة أجيال متعاقبة من نموها . ولازال السبب فى ذلك مجهولا ويحتمل أن يكون السبب فى ذلك يرجع إلى تحكم بعض العوامل السيتوبلازمية فى صفة التلون شأنها فى ذلك شأن الطفرات التخمرية كما سنبين فيما يلى :

(ح) الطفرات المختلفة فى الصفات التخمرية :

يمكن عزل طفرات تختلف من ناحية صفاتها التخمرية عن السلالةالأصلية التى نشأت فيها وقد لوحظت هذه الاختلافات منذ عهد باستير . ويعتبر أول ما شوهد من طفرات البكتيريا *E. coli* تلك السلالات المختلفة فى قدراتها التخمرية فقد تمكن ماسينى Massini (١٩٠٧) من عزل طفرات ذات قدرة على تخمير سكر اللاكتوز (لاكتوز+) من سلالة أصلية كانت غير قادرة على تخمير هذا السكر (لاكتوز −) وذلك بأضافة دليل إلى البيئة يتغير لونه عند انتاج الحمض فتبدو مستعمرات (لاكتوز −) بيضاء اللون فى حين تبدو تلك المخمرة (لاكتوز +) حمراء اللون . وقد أشار ماسينى إلى السلالات المخمرة للاكتوز بأنها طفرات تحدث على معدل ١ × ١٠ ^−٥^ . وقد درست عدة طفرات تخمرية أخرى لأفراد مجموعة بكتيريا القولون مثل الطفرات التى تختلف فى قدرتها على استعمال السترات أو سكر المالتوز ولوحظ أن هذه الطفرات تختلف عن الطفرات الأخرى فى أن معدل حدوثها يكون أكبر من غيرها فهى تنشأ على معدل يتراوح بين ١ × ١٠ ^−٧^ ، ١ × ١٠ ^−٥^ لكل جيل

ومن الملاحظ أن درجة ثبات الطفرات التخمرية أقل كثيراً من غيرها من الطفرات والسبب فى قلة ثبات هذه الطفرات لازال غير معروف . والطفرات التلوينية التى سبق الاشارة اليها والتى تختلف عن السلالات الأصلية فى درجة تلونها أو فى قدرتها على إفراز الصبغات وكذلك الطفرات التى تختلف فى تركيبها الأنتيجينى antigenic structure قد تظهر أيضاً ظاهرة عدم الثبات ومن المحتمل أن صفة عدم الثبات هذه تكون محكومة

بعوامل سيتوبلازمية أى عوامل غير نووية . إلا أن دراسة العبور وإعادة تشكيل الصفات الوراثية فى البكتيريا *E. coli* قد أظهرت أن صفة التخمر يتحكم فيها جينات خاصة فى الخلية ، من ذلك يمكن القول أن عدم ثبات الطفرات المختلفة فى الصفات التخمرية وغيرها من الطفرات غير الثابتة لازال محتاجا إلى مزيد من الدراسة .

٢ — الطفرات المقاومة لتأثير المواد السامة :

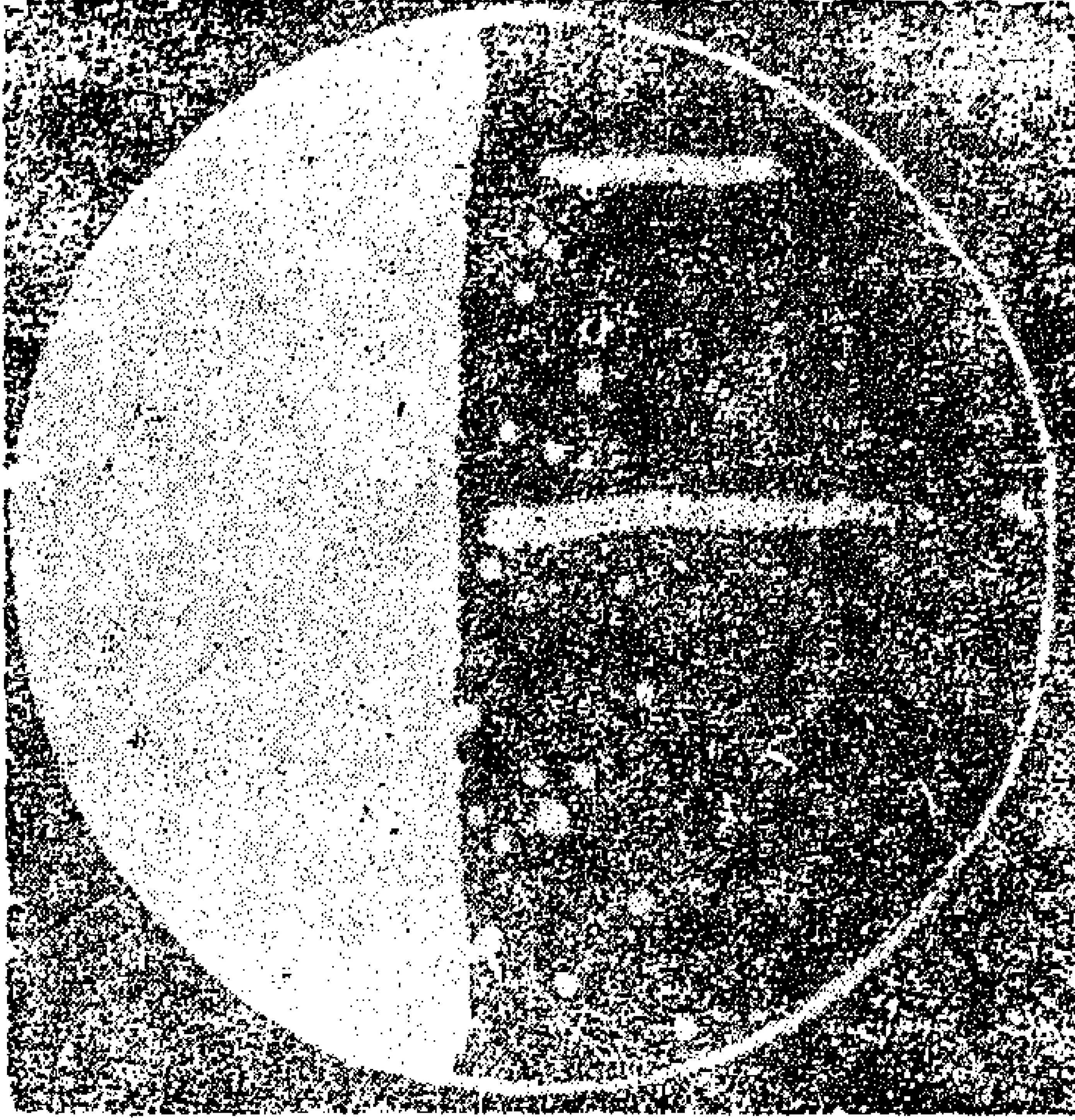
Mutants resistant to inhibitory agents

تشمل هذه المجموعة الطفرات البكتيرية المقاومة للمواد السامة بما فيها المضادات الحيوية وكذلك تلك المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى . فمثلا هناك طفرات يمكنها أن تنمو فى بيئات تحتوى على تركيز من المضاد الحيوى ستربتومايسين يقدر بـ ١٠٠ ميكروجرام لكل ميليلتر واحد من البيئة . فى حين أن السلالة الأصلية التى نشأت منها تكون حساسة لفعل هذا المضاد الحيوى بحيث يكفى تركيز ١٠ ميكروجرام / مل لإيقاف نموها كلية . ومثل هذه الطفرات المقاومة للستربتومايسين تكون محتفظة بحساسيتها للمضادات الحيوية الأخرى إلا أنه قد وجد أن بعض الطفرات المقاومة لبعض المضادات الحيوية قد تظهر مقاومة أكثر أو أقل لبعض المضادات الحيوية الأخرى.ومن أمثلة تلك الطفرات المقاومة للمضاد الحيوى أوريومايسين aureomycin والتى تكون مقاومة فى نفس الوقت للمضاد الحيوى تيرامايسين terramycin وتعرف هذه المقاومة بالمقاومة المشتركة cross-resistance . وهذان المضادان الحيويان يتميزان بتشابه فى تركيبهما الكيماوى لذلك فهما متشابهين أيضا فى تأثيرهما الكيماوى الحيوى على الخلايا الحساسة أو بمعنى آخر يكون لهما نفس الفعل السام same mode of action .

وقد سبق أيضا أن ذكرنا أن الفعل المميت للمضادات الحيوية يرجع غالبا إلى التدخل فى التفاعلات الحيوية الهامة بالخلية . وبدراسة التفاعلات الايضية للسلالات المقاومة لفعل بعض المضادات الحيوية لوحظ أن قدرتها على المقاومة

كانت مصحوبة بالتغلب أو بتلافى التفاعلات الضارة أو المعطلة للنمو نتيجة لتأثير المضاد الحيوى . ولإيضاح ذلك نسوق المثال التالى فالمضاد الحيوى بنسلين يؤثر على البكتيريا *Staphylococcus aureus* عن طريق تدخله فى طريقة دخول حمض الجلوتاميك داخل الخلايا . فالخلايا المقاومة للبنسلين من نفس البكتيريا لابد وأنها تستغنى عن المصـــدر الخارجى من حمض الجلوتاميك بمعنى أنه يمكنها تخليق هذا الحمض داخلياً فهى إذن لا تعتمد على التفاعلات التى يوقفها البنسلين . كما نجد أن البكتيريا المقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين لا تعتمد على التفاعلات التى يتأكسد فيها حمض البيروفيك بالانزيمات التنفسية حيث أن هذه التفاعلات هى التى تتوقف نتيجة لتأثير هذا المضاد الحيوى على الخلايا الحساسة له .

وتختلف درجة مقاومة الطفرات البكتيرية للمضاد الحيوى ، فبينما نجد بعض الطفرات مقاومة لتركيزات منخفضة من مضاد حيوى معين نجد بعض الطفرات الأخرى مقاومة لتركيزات أعلى من نفس المضاد الحيوى . ومقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية يمكنها أن تزداد بإجراء النقل المستمر للبكتيريا إلى بيئات تحتوى على تركيزات متزايدة من المضاد الحيوى . وهذا يساعد كثيراً على إنتخاب طفرات قليلة مقاومة لتركيزات مرتفعة وتختلف المضادات الحيوية فى هذا الصدد فقد وجد أن مقاومة الخلايا البكتيرية للبنسلين يمكن زيادتها تدريجياً Stepwise بالطريقة سابقة الذكر نتيجة إلى حدوث سلسلة متتابعة من الطفرات ، بينما فى حالة الستربتومايسين تظهر الطفرات المقاومة للتركيزات المرتفعة منه مباشرة عند أول خطوة من التعرض إلى هذه التركيزات . بمعنى أن الطفرات المقاومة له تظهر مجالا واسعاً من درجات المقاومة حيث يمكن عزل طفرات مقاومة لتركيزات منخفضة وأخرى مقاومة لتركيزات متوسطة وأخرى مقاومة لتركيزات مرتفعة دفعة واحدة . ويفضل لعزل هذه الطفرات أتباع طريقة الطبق المتـــــــدرج التركيز والذى سبق وصفها



شكل ٨٨ : نمو طفرات من البكتيريا *E. coli* على طبق متدرج التركيز من مضاد حيوى. لاحظ نمو مستعمرات الطفرات المقاومة بعيدة عن التركيز المانع لنمو معظم الخلايا . ويبين الشكل أيضاً استمرار مقاومة مستعمرتان منها للتركيزات الأكثر ارتفاعاً بعد سحب خلاياها تجاه التركيز المرتفع من الطبق .

ويبين (شكل ٨٨) بعض مستعمرات طفرية مقاومة للتركيزات المتدرجة من المضاد الحيوى استربتومايسين.

وقد تتكون الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية داخل جسم العائل المريض أثناء علاجه بهذه المضادات الحيوية ونتيجة لذلك تتأقلم بالجسم سلالة مقاومة يصعب التخلص منها . لذلك يفضل للعلاج استعمال خليط من المضادات الحيوية المختلفة عن بعضها كيماوياً كما سبق أن بينا . كما يمكن أيضاً أن تتكون طفرات تعتمد على المضاد الحيوى فى تغذيتها مثل ما يحدث فى حالة طفرات *E. coli* المتطلبة للستربتومايسين streptomycin-dependent وليس هناك تفسير واضح عن كيفية حدوث مثل هذه الطفرات إلا إذا كانت هذه الخلايا تعتمد على المضاد الحيوى أو نفضله على غيره كمصدر للكربون .

وقد يحدث التطفر تجاه مقاومة الخلايا الفعل التحللى lytic action للفيروسات البكتيرية . وقد درست مثل هذه الطفرات تفصيليا فى البكتيريا *E. coli* مع سبع سلالات من الفيرس البكتيرى والتى يرمز لها (ت ١ T1 ، ت ٢ T2 ، ت ٣ ، ت ٤ ، ت ٥ ، ت ٦ ، ت ٧) ، والتى تكون خلايا

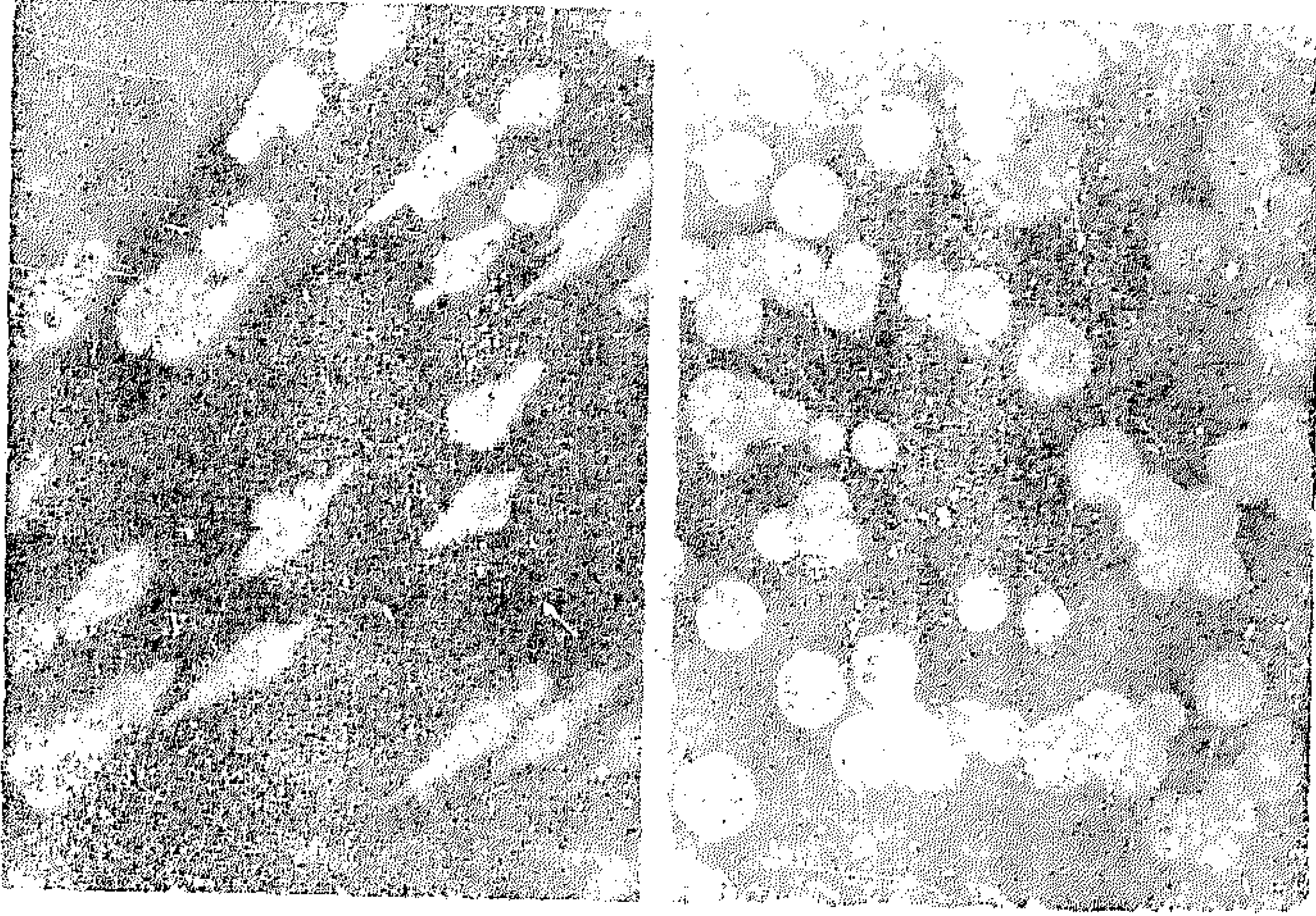
السلالة البكتيرية الأصلية حساسة لها. وقد عزلت عدة طفرات بعضها مقاوم لسلالة واحدة والبعض الآخر مقاوم لأكثر من سلالة أو للسلالات جميعاً . والطريقة التى تقاوم بها الخلايا لتأثير الفيرس البكتيرى لازالت غير واضحة ، ولكن يبدو أنها ترجع إلى عدم قدرة جزيئات الفيرس البكتيرى على الادمصاص lack of adsorption على سطح الخلايا المقاومة له . وتعزل الطفرات المقاومة للفيرس البكتيرى عادة دفعة واحدة عقب التعريض لتأثيره .

وقد أمكن أيضاً عزل طفرات من البكتيريا *E. coli* strain B مقاومة لتأثير الاشعاعات وبخاصة الاشعة فوق البنفسجية . وتشبه هذه الطفرات تلك المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى فى كونها تحدث فى خطوة تطفرية واحدة. وقد وجد أن الطفرات المقاومة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية تكون مقاومة أيضاً لتأثير فوق أكسيد الايدروجين ، والخردل النيتروجينى ، والكريستال فيوليت والسفرانين وتيليوريت البوتاسيوم potassium tellurite والبروفلافين proflavin . وقد ثبت حديثاً إمكان الحصول على طفرات من البكتيريا *E.coli* مقاومة لتأثير الاشعاعات عن طريق عزل طفرات مقاومة لتركيزات مرتفعة من صبغة الكريستال فيوليت أو البروفلافين باتباع إحدى الطرق السابق وصفها فى دراسة تأثير المواد الكيماوية . ويمكن على ضوء هذه الأبحاث أن نستخلص أن الطفرات المقاومة لتأثير الاشعاعات تتمثل فى الطفرات المقاومة للتأثيرات التأكسدية . هذا ولازالت طبيعة هذه التأثيرات التأكسدية غير متعرف عليها .

٣ — التطفر الذى يؤثر على الصفات المظهرية للمستعمرات :

Mutations affecting colonial morphology

من المعروف أن الشكل المظهرى لمستعمرات البكتيريا لا يختلف فقط باختلاف الأنواع البكتيرية بل أيضا باختلاف السلالات البكتيرية . وقد تتضافر عوامل عديدة على اظهار مثل هذه الاختلافات المظهرية فى شكل المستعمرات . ومن ضمن هذه العوامل الشكل المظهرى للخلايا وتركيبها

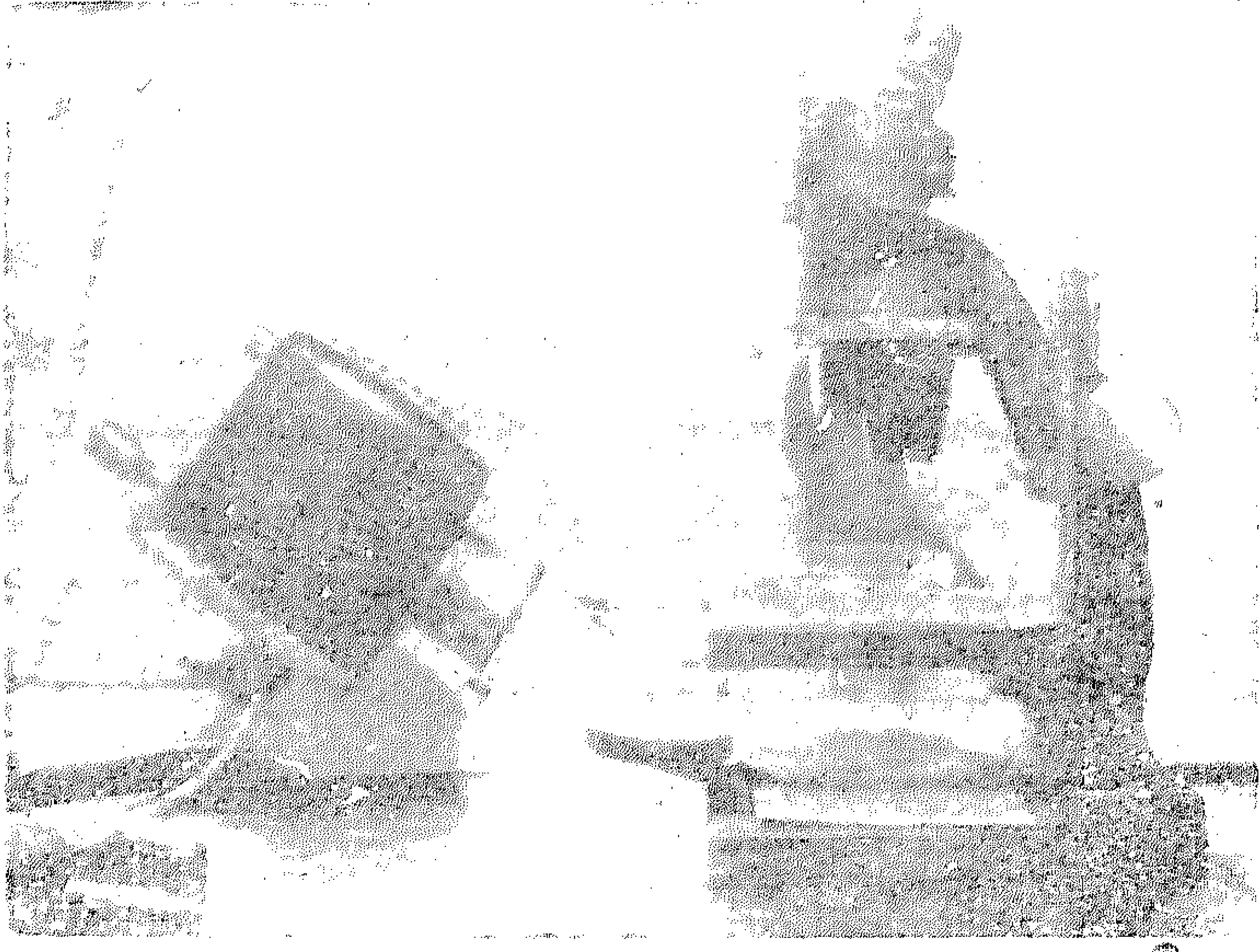


شكل ٨٩ : مستعمرات ناعمة (Smooth) وأخرى خشنة من البكتيريا *Bacillus anthracis* كما تشاهد بالعين المجردة .

السطحي وطريقة تجمعها . هذا وترتيب الخلايا بالنسبة لبعضها البعض يتوقف جزئياً على طريقة تحرك الخلايا عقب انقسامها على سطح البيئة الصلبة .

ويمكن التعرف على الاختلافات فى أشكال المستعمرات بالعين المجردة (شكل ٨٩) الا أنه يمكن مشاهدة مزيد من الاختلافات بأستعمال مجهر ضوئى تشريحى بسيط dessecting microscope ، والطريقة المثالية لفحص المستعمرات البكتيرية لمشاهدة الاختلافات الطفيفة فى صفاتها المظهرية تتلخص فى تنميتها على بيئات غذائية شفافة وفحصها بالمجهر البسيط مع اتباع طريقة الاضاءة المائلة obliquely transmitted light ويبين (شكل ٩٠) طريقة الحصول على مثل هذا النوع من الاضاءة .

ومما هو جدير بالذكر أن مثل هذه الاختلافات تكون فى بعض الأحيان ذات أهمية بالغة للتعرف على مرضية المستعمرات ولا يمكن التحقق منها ميكروسكوبيا إلا بالإستعانة بطريقة الاضاءة المائلة . والسبب الأساسى فى دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات هو وجود تلازم بين الاختلافات فى



شكل ٩٠ : كيفية الحصول على الضوء المائل عن طريق تعديل مرآة مجهر بسيط لغرض فحص المستعمرات البكتيرية .

مظهر المستعمرات وبين كثير من الصفات الأخرى الهامة كالقدرة على إحداث الأمراض والتركيب الانتيجيني الخلوى antigenicity وكذلك درجة مقاومة الخلايا للمواد الكيماوية .

أشكال المستعمرات : لوحظ عدد كبير من الاختلافات فى مظهر المستعمرات فى معظم الأنواع البكتيرية وقد يشار إليها بما يأتى : مستعمرات ناعمة (S) ، خشنة (R) ، مخاطية (M) mucoid ، ومتوسطة (I) intrmediate وبالفحص المجهرى الدقيق باستعمال الاضاءة المائلة أمكن التعرف على عدد من الاختلافات فى كل من الاشكال الرئيسية سالفة الذكر . فمثلا يمكن ملاحظة تصنيفات عديدة من المستعمرات الوسطية intermediate تعرف I_1 ، I_2 ، I_3 ، وكذلك فى المستعمرات الناعمة حيث تعرف SI ، SII ،

S III الخ . هذا وهناك نوع من المستعمرات يشار إليها بحرف (G) هي عبارة عن مستعمرات دقيقة جداً محتوية على وحدات قابلة للترشيح ، وكـذلك المستعمرات الدقيقة أو المتقزمة dwarf (D) وهي مستعمرات صغيرة نسبياً تحتوى على خلايا مختلفة في الشكل تعرف باسم dephteroids وأيضاً المستعمرات التي يشار إليها بالحرف (L) وهي المستعمرات الدقيقة المحتوية على خلايا شبيهة بمجموعة البليرونيمونيا Pleuropnuemonia group والتي تعرف L-form ، وفي كثير من الأنواع البكتيرية تتكون طفرات ذات خلايا لم يتغير تركيبها المورفولوجي ولكنها تكون مستعمرات صغيرة جداً microcolonies. ومثل هذه المستعمرات الصغيرة جدا يبدو أن لها نشاطاً أيضياً منخفضاً وقد تتطلب جزئياً اضافة بعض عوامل النمو أو الفيتامينات إلى بيئة الزرع . هذا وطالما كانت الاختلافات في الشكل المظهري للمستعمرات البكتيرية لا تمثل الخطوات المرحلية في حياة البكتيريا ، كما هو في حالة *L*-form bacteria فأن المظهر المختلف قد يمكن أتخاذه حينئذ كدليل على حدوث طفرات تلقائية غير موجهة في بعض الصفات الأخرى التي كانت مميزة للجموع البكتيرى لذلك يجب أن لا يعتمد على الشكل المظهرى للمستعمرات في التعرف على السلالات أو الأنواع البكتيرية أو يجب دراسة صفاتها الفسيولوجية أيضا . وحيث أن الصفات المظهرية تكون عرضة للتغير تبعاً للظروف البيئية فيجب أيضا أن يكون لدينا القدرة على التمييز بين الاختلافات التي تنشأ نتيجة للتقلبات البيئية وتلك التي تنشأ نتيجة للطفرات .

أحداث الطفرات صناعيا : Induction of Mutants

معظم أنواع الطفرات السابقة الذكر تحدث تلقائياً spontaneously بالطبيعة على معدل يتراوح بين ١ × ١٠⁻⁴ و ١ × ١٠⁻¹⁰ ومن المعقول جداً أن نفترض أن منشأ الأجناس البكتيرية وكذلك الأنواع والسلالات يرجع إلى حدوث هذه الطفرات التلقائية . كما أن المزيد من السلالات المختلفة لازالت في طريقها إلى الظهور عن هذا الطريق أيضاً . وليس من الضرورى

أن يسفر التطفر عن سلالات بكتيرية تكون أقدر على التأقلم بالبيئة من السلالات الأصلية التى نشأت منها إلا أنه قد يحدث العكس عادة بمعنى أن الطفرة الناتجة تكون أضعف وأقل قدرة على التأقلم من السلالة الأم . وفى الحقيقة فأن التطفر نحو الاعتماد الغذائى على واحد أو أكثر من المركبات الغذائية يعتبر تطفراً مميتاً lethal mutations إلا إذا تواجدت هذه المواد الغذائية بكميات كافية فى البيئة بدرجة تسمح بالنمو .

وقد افترض البعض أن الموت الذى يعقب التعرض للأشعة السينية أو فوق البنفسجية يرجع إلى حدوث تطفرات مميتة . إلا أنه لا توجد أدلة تجريبية تؤيد أو تدحض هذا الافتراض فى حالة البكتيريات بالرغم من توافر مثل هذه الأدلة فى حالة خلايا الخميرة بعد تعرضها للأشعة السينية .

والمقارنة بين التأثير المميت أو التطفرى لكلا النوعين من الاشعاعات أعنى الأشعة السينية وفوق البنفسجية ، قد تبين أن هناك تشابها واضحاً بينهما .

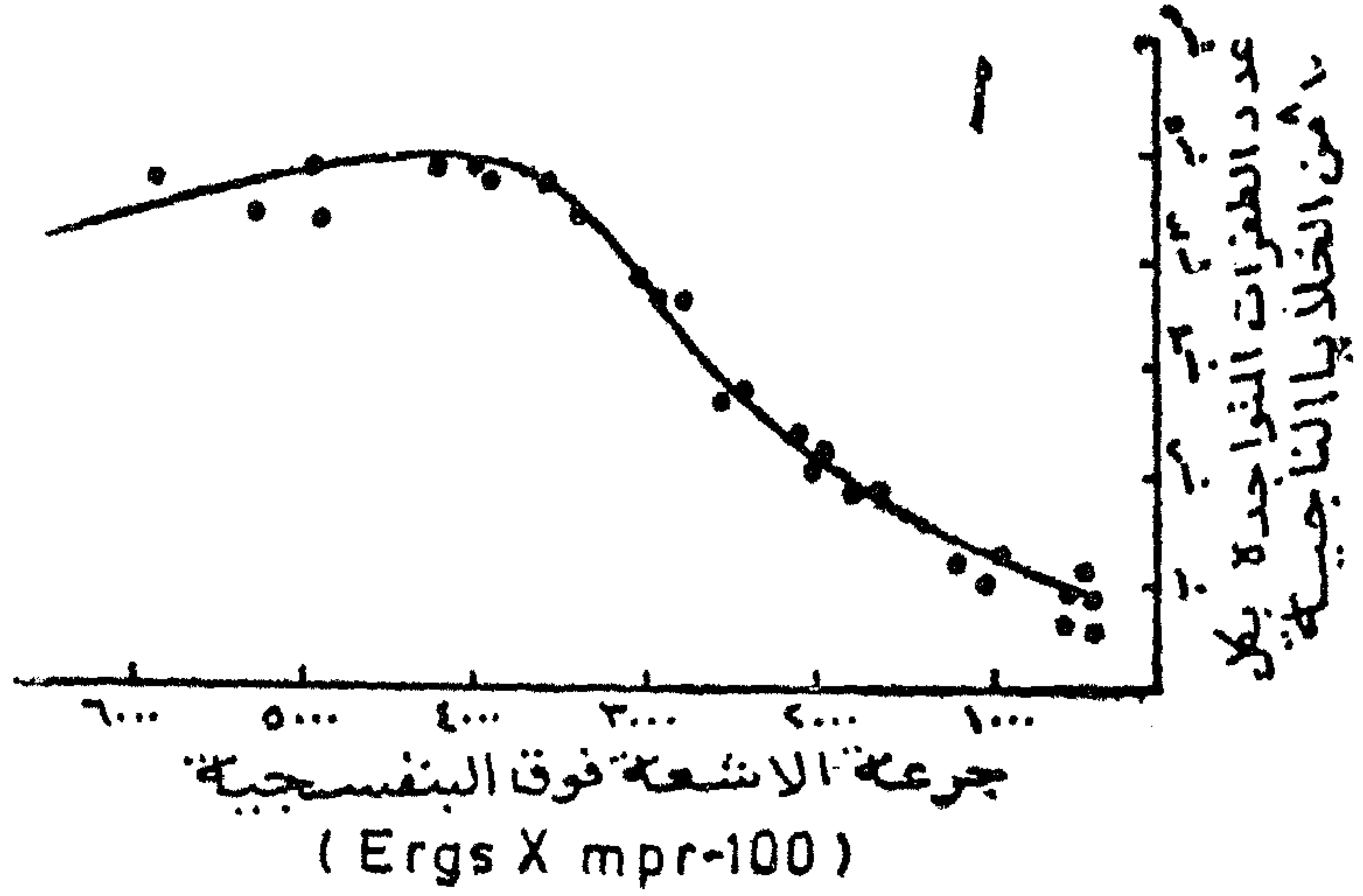
والطريقتان المقترحتان للفعل المميت للأشعاعات تتلخص فيما يلى : التأثير المباشر direct hit والتأثير غير المباشر indirect action وهما الطريقتين المؤثرتين أيضا على الجينات . والتأثير المباشر للأشعة على المناطق الحساسة من الجينات يؤدى إلى حدوث تأين للجزئيات المكونة لها ويحدث نتيجة لذلك غالباً تغير فى التركيب الجزيئى DNA فى هذه المناطق . وحتى إذا لم يحدث التأثير المباشر لمناطق الجينات فان نواتج تأين هذه المناطق المتأثرة مثل أيونات الهيدروكسيل أو الهيدروبيروكسيل يمكنها أن تنتشر إلى أن تصل إلى مواقع الجينات وتؤثر عليها . وتفاعل هذه الأيونات مع الجزيئات المكونة للجين غالباً ما تؤدى إلى حدوث تغيرات وراثية مميتة .

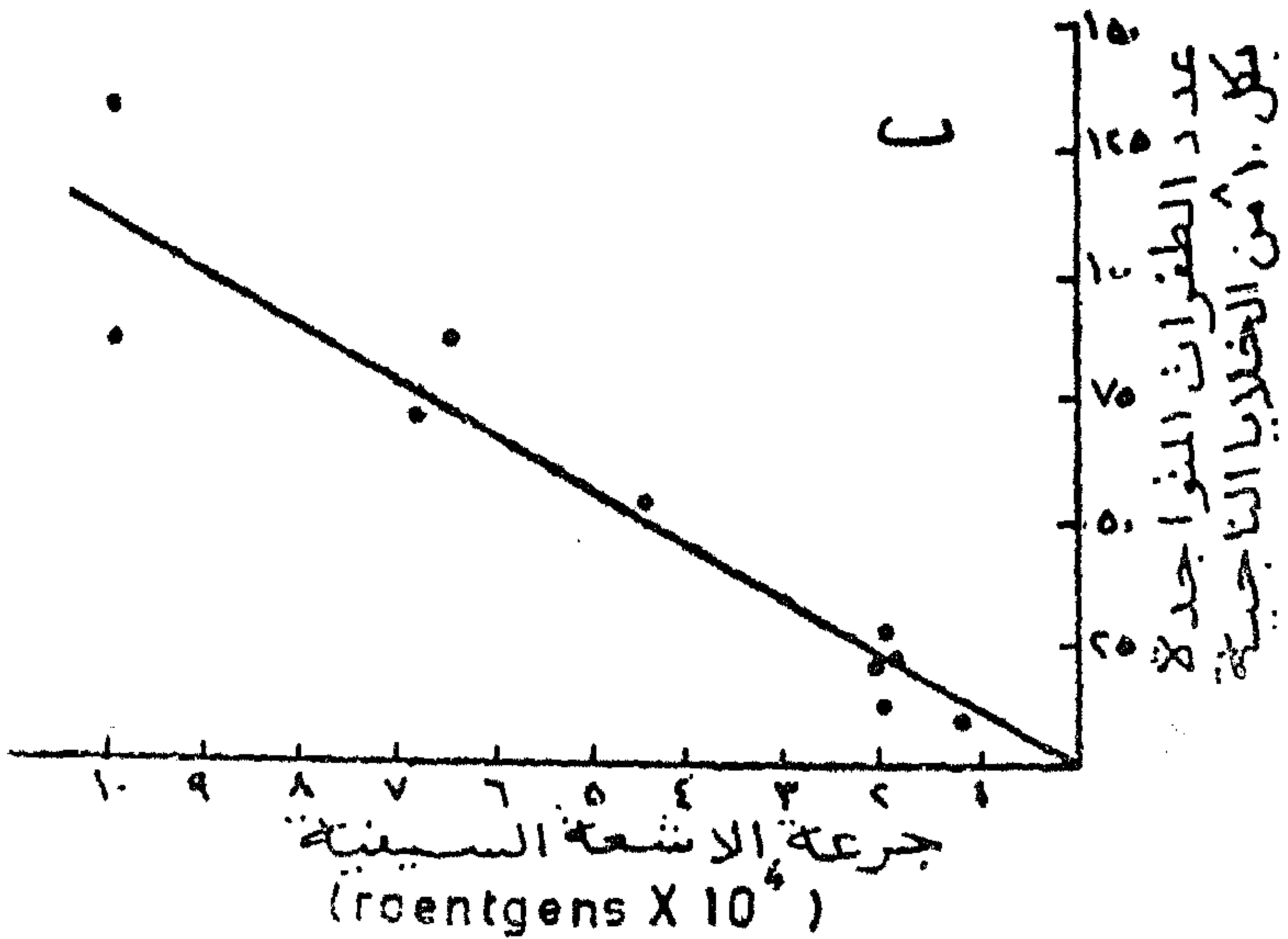
وطريقة عمل المواد التطفرية الكيماوية chemical mutagens مثل الخردل النيتروجينى nitrogen mustard والفورمالدهيد لازالت غامضة ، إلا أنه

يفترض أن هذه المواد تتفاعل مع المجاميع النشطة للبروتينات النووية ، وكما سبق أن بينا أن هناك عدداً كبيراً من المواد ذات القدرة على التفاعل والارتباط بالبروتين النووى ولكن ليس لها تأثير تطفرى . إذن فالطريقة التى تتحد بها المواد التطفرية الكيماوية مع الـ desoxyribonucleoprotein المكونة للجينات وما يعقبها من تفاعلات لابد وأن تكون طرقاً خاصة تؤدى إلى التطفر mutagensis.

قد سبق أن شرحنا ظاهرة التنشيط الضوئى ، فى الباب الثالث من هذا الكتاب ونعود هنا لنذكر أن تعرض المزارع البكتيرية للضوء المرئى عقب تعريضها للأشعة فوق البنفسجية لا يزيد من نسبة الخلايا الناجية من الموت فحسب بل أنه يقلل أيضاً من نسبة الخلايا المتطفرة ضمن الخلايا الناجية وذلك نتيجة لإعادة نشاط أنزيم DNA polymerase كما سبق أن وضحنا ، وظاهرة التنشيط الضوئى هذه قد لوحظت فى عديد من الكائنات الأخرى غير البكتيرية مثل فطر *Neurospora* sp. ، وخلايا الخميرة *Saccharomyces* sp. ، وفطر *Penicillium* sp. ، والفيروسات البكتيرية Bacteriophages. وقد وجد أنه عقب الجرعات المرتفعة من الأشعة فوق البنفسجية فإن ظاهرة التنشيط الضوئى يزيد فقط من نسبة الخلايا الناجية أما فى حالة استعمال جرعات منخفضة من هذه الأشعة فان الضوء المرئى يزيد من تعداد الخلايا الناجية ويقلل من نسبة الخلايا المتطفرة بها .

ويجب أن نقرر هنا أنه من الصعب إلى حد ما ايجاد علاقة بين المواد الوسطية الناتجة بفعل الاشعاعات مثل البيرو أو كسيدات العضوية والتى يكون لها دور فى الفعل التطفرى لهذه الأشعة ، وبين القدرة العالية الـ DNA المكون للأنوية على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية الأمر الذى يؤكد التأثير المباشر direct hit لهذه الأشعة فى احداث الطفرات . وهناك أدلة تشير إلى أن تأثير الاشعاعات فى احداث التطفر تأثير معقد قد يتم بأكثر من طريقة واحدة وقد سبق أن بينا تأثير الاشعاع على محتوى النيكليوتيدات من القواعد البيورمينية





شكل ٩١ : تأثير الجرعات الإشعاعية على زيادة معدل الطفرات المقاومة للفيرس البكتيرى من البكتيريا *E. coli - B.* (أ) فى حالة الأشعة فوق البنفسجية (٢٥٣٧ انجستر ام) ، (ب) فى حالة الأشعة السينية .

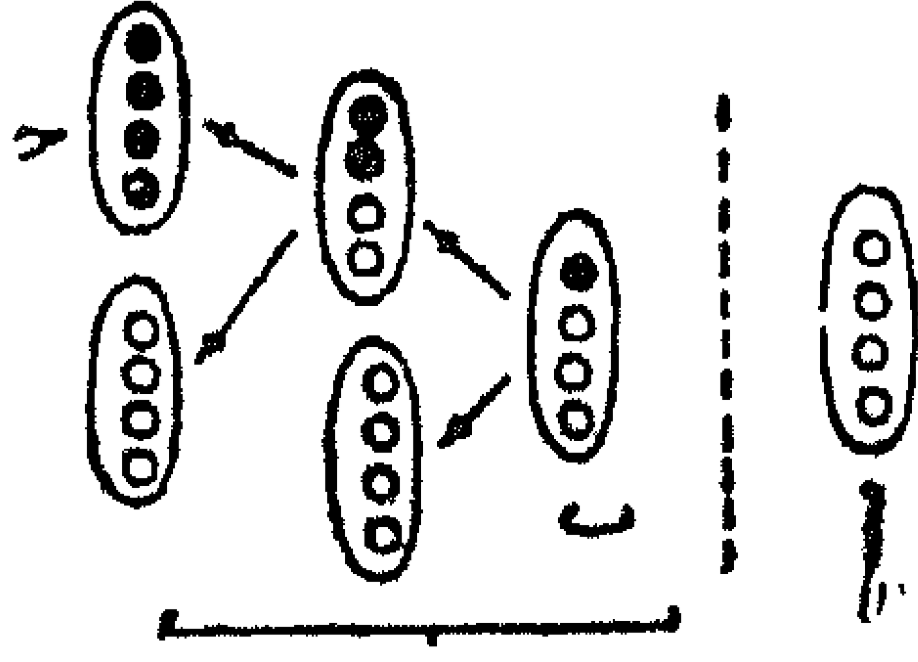
والبار يميدنية — وكذلك على حدوث البار يمدين دايمرز وخاصة المركب thymine dimer المانع لنشاط أنزيم DNA polymerase

وبدراسة المنحنيات التى تخطط للتعرف على العلاقة بين لوغاريتمات تعداد الخلايا الناجية أو عدد الطفرات المتكونة وبين جرع الاشعاعات فاننا نلاحظ أن هذه المنحنيات تختلف بأختلاف نوع الأشعة المستعمل . فى حالة الأشعة السينية تمثل العلاقة خطا مستقيما (شكل ٩١ — ب) بمعنى أن هناك تلازم مباشر بين حدوث الموت أو التطفر وبين الجرعة المستعملة . وفى حالة الأشعة فوق البنفسجية فأننا نحصل على منحنى غير مستقيم sigmoid curve (شكل ٩١— ا) بمعنى أن الجرعات العالية فقط تكون ذات تأثير أكبر فى احداث الموت أو التطفر . وهذا يعنى أنه فى حالة الأشعة السينية يحدث الفعل المميت أو التطفرى نتيجة للتأثير المباشر Direct hit فى حين أنه فى حالة الأشعة فوق البنفسجية فانه يلزم عدة تأثيرات multiple hits للحصول على نفس النتيجة .

ويمكن حساب معدل التطفر لأى نوع بكتيرى عقب تعرض خلاياه إلى العامل التطفرى بإجراء اختبار التذبذبات fluctuation test السابق الذكر .

ومن الملاحظ أن عدداً كبيراً من الطفرات البكتيرية الناتجة عقب تعريض المزارع لعوامل التطفر لا تظهر صفاتها الجديدة إلا بعد مرور عدة أجيال عقب التعرض للعامل التطفرى . وكان ديمرك Demerec (١٩٤٦) أول من لاحظ هذه الظاهرة حيث وجد أن طفرات البكتيريا *E. coli* المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى تبدأ فى الظهور بوضوح بعد مرور عدة أجيال على نموها عقب التعرض للأشعة السينية وقد بين ضرورة مرور ٨ أجيال عقب المعاملة بالأشعاع لكى تظهر الطفرات المقاومة بصورة واضحة ، وقد اقترح اسم phenotypic Lag للأشارة إلى هذه الظاهرة .

وقد لاحظ Newcombe أن مثل هذه الفترة من السكون أو الركـود لظهور تأقلم الطفرات تحدث أيضاً للطفرات التلقائية التى تحدث بالطبيعة. وهذا يعنى أن الطفرات لا تظهر نفسها مباشرة بعد حدوثها وأن ذلك يتطلب نموها لعدة أجيال . وقد أقترحت عدة تفسيرات لهذه الظاهرة ، (ا) وجود مواد أيضية زائدة فى الخلايا يلزم استهلاكها بالرغم من عـدم قدرة الخلايا على تكوينها ويعرف ذلك باسم الركود الفسيولوجى physiologic lag (ب) تدخل بعض العوامل السيتوبلازمية ، (ج) تأخر نمو الخلايا نتيجة لتأثرها بالعوامـل التطفرية ، (د) انعزال الجينات وبخاصة انعزال الجينات المحمولة على النوايا المتأثرة فى الخلايا العديدة الأنوية . وبما أن خلايـا البكتيريا تحتوى على أجسـام كروماتينية عديدة ، فقد يكون ذلك هو السبب الحقيقى لما لاحظه دبمبرك و(شكل ٩٢) يبين ما يمكن أن يتم عند حـدوث طفرة فى أحد أنوية الخلية العديدة الأنوية .



شكل ٩٢ : رسم تخطيطى يفسر حدوث فترة السكون phenotypic lag التى تسبق تأقلم ووضوح بصفات الطفرية متنحية (ا) خلية متعددة الأنوية ذات تركيب وراثى موحد same genotype (ب) خلية مختلفة الأنوية heterokaryotic نتيجة لحدوث طفرة متنحية فى احد أنويتها (ح) خلية متعددة الأنوية ذات تركيب وراثى موحد من النوايات المتغيرة نتجت بعد مرور دورتين انقساميتين.

واحتمال حدوث طفرات تلقائية أو صناعية فى أكثر من نواة واحدة فى وقت واحد احتمال ضعيف جداً أو شبه معدوم . وحيث أن معدل التطفر يكون عادة قريباً من ١ × ١٠—٧ فأن حدوث طفرتين فى وقت واحد فى خلية واحدة يجب وأن يحدث على معدل قدره ١ × ١٠—١٤ وهذا احتمال ضعيف جداً . ومن الملاحظ أنه إذا تغيرت نواة واحدة فى خلية عديدة الأنوية وكان هذا التغير متنحياً فأن وجود الجينات الأخرى الطبيعية بالأنوية الأخرى

لا يسمح بظهور مثل هذا التغيير . ولما كانت معظم التغيرات الطفرية متنحية لذلك فهى لا تظهر مباشرة حتى تسنح الفرصة للنواة المتغيرة أن تتواجد فى خلية واحدة خالية من الأنوية الأخرى أو بمعنى آخر أن تتواجد مع أنوية تحتوى على نفس التغير الوراثى . وهذا يتطلب عمليات انقسام خلوى متكررة وبالتالى يمكن عن هذا الطريق تفسير ظاهرة السكون الفينوتيبى phenotypic lag للطفرات عموما .

المراجع

Braun, W.1953. Bacterial genetics. W.B. Saunders and Co., Philadelphia

Bunting. M.I. 1946. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 11 : 25.

Catchside, D.G. 1951. The genetics of microorganisms. Sir Issac Pitman and Sons, London.

Demerec, M. 1946. Proc. Nat. Acad. Sic., 32 : 36.

Kelner, A. J. 1949. J. Bacteriol. 58 : 511.

Luria, S.E. 1947. Bact. Rev. 11 : 1.

Lederberg, J. 1949. Ann. Rev. Microbiol., 3 : 1.

Lederberg, J. 1951., « Inheritance, Variation and Adaptation » in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds) Bacterial Physiology. Acad. Press. N.Y.

Lederberg, J. and Lederberg, E.M. 1952. J. Bacteriol. 63 : 399.

Lincolin, R.E. 1947. J. Bacteriol, 54 : 745.

Luria, S.E. and Delbruck, M. 1943. Genetics. 28 : 491.

Massini, R., 1907. Arch. Hyg., 61 : 250.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt Rinehart and Winston. New York. 769 p.

Newcombe. H.B. 1948. Genetics. 33 : 447.

Newcombe, H.B. 1949. Nature, 164 : 150.

Newcombe, H.B. and Whitehead, H.A., 1951. J. Bacteriol. 61 : 243.

Novick, A. and Szilard, L. 1950. Proc. Nat. Acad. Sci. 36 : 708.

Novick, A. and Szilard, L. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Qunt. Biol., 16 : 337.

Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit, 1954. An introduction to bacterial physiology. W.H. Freeman and Co. San. Francisco.

Stocker. 1949. Journal of Hygiene 47 : 398 — 413.

Szbalski, W. and Bryson, V., 1952. Gradient plate technique for isolation of antibiotic-resistant mutants J. Bacteriol. 64 : 489.

Tatum, E.L. and D.D. Parkins, 1950. Ann. Rev. Microbiol. 4 : 129.

الفصل الثانى

التصنيفات غير التطفرية

Variations other than mutations

١ — التحورات : Modifications

من المعروف أن كل التصنيفات الجماعية التى تحدث للمزارع البكتيرية لا يكون مصدرها التطفر أو الانتخاب فقط بل أن هناك مصادر أخرى، وقد سبق أن بينا إمكان حدوث بعض التحورات modifications المؤقتة تحت تأثير العوامل البيئية والتى لا تورث إلى الأجيال المتعاقبة . ومثل هذه التحورات تحدث عادة لكل خلايا المجموع المتشابه وراثياً (ذات تركيب وراثىgenotype متشابه) فى وقت واحد . إلا أنه فى بعض الأحيان يحدث أن لا تتأثر كل الخلايا المتشابهة وراثياً بعوامل البيئة بدرجة واحدة حيث أن مثل هذه الخلايا لا تكون جميعاً فى حالة فسيولوجية موحدة بحيث تتأثر جميعها بدرجة واحدة بالعامل البيئى المؤثر فيؤدى ذلك إلى حدوث تغييرات فردية أحيانا .

وقد سبق أن بينا أيضاً أنه عند تعريض المزرعة البكتيرية إلى عامل بيئى معين فان كل خلايا المزرعة تتأثر به ويحدث بها تغيرات معينة فى صفاتها المعتادة وأن هذا التغير يظل ثابتاً فى وجود العامل البيئى المسبب وأن الخلايا تعود إلى صفاتها الطبيعية بمجرد زوال المسبب . وفى بعض الأحيان قد يستمر التغير المظهرى hpynotypic alternation لمدة قصيرة عقب نقلها إلى بيئاتها الطبيعية . وتعلل هذه الظاهرة بقدرة الخلايا على تخزين المواد الوسطية الناتجة بالخلايا أثناء نموها تحت تأثير العامل البيئى المسبب للتغير ويستعملها لعدة أجيال عقب انتقالها إلى بيئة جديدة بعيدة عن العامل المؤثر ، ويعرف هذا التأثير بأسم تأثير المواد المخزنة carryover effects .

ويمكن مقارنة هذه التحورات بما يحدث عن طريق التطفر أو الانتخاب فعند أخذ عينات مستمرة من المجموع المتغير فى حالة التطفر يلاحظ زيادة

تدريجية فى تعداد الأفراد المتغيرة الناتجة عن نمو الخلايا الطفرية . وعلى النقيض فانه فى حالة التحورات غير التطفرية التى تحدث نتيجة للأقلمة يحدث التغيير لكل خلايا المجموع فى وقت واحد ولا يلاحظ زيادة تدريجية وهذا لا يتم كما سبق أن بينا إلا إذا كانت خلايا المجموع البكتيرى جميعها ذات تركيب وراثى موحد one genotype . أما إذا كان المجموع مكونا من أفراد مختلفة عن بعضها فى التركيب الوراثى (كما يحدث فى حالة التطفر) فلا يمكن أن يحدث تغيير لكل خلايا المجموع فى وقت واحد .

ولإيضاح ما تقدم نسوق المثال التالى :

إذا افترضنا وجود مزرعة بكتيرية مختلطة (شكل ٩٣) تحتوى على مجموعتين بكتيريين « ا ، ب » خلايا كل منهما ذات تركيب وراثى موحد . وأن خلايا كل من المجموعين تكون مستعمرات متشابهة إذا ما نميت على بيئة معينة « ج » . ولكن إذا نميا على بيئة أخرى « د » فان خلايا كل مجموع ا سوف تعطى مستعمرات تختلف عن مستعمرات المجموع الآخر . ومثل هذ التغيير فى شكل المستعمرات على البيئة « د » لا يمكن أن يكون نتيجة لحدوث التطفر أو الانتخاب . حيث يمكن أن تكون كلا النوعين مستعمرات متشابهة إذا ما أعيد زرعها على البيئة « ج » .

وهناك تغييرات جماعية أخرى قد تحدث للمجاميع البكتيرية والتى يمكن أن تؤدى إلى استنتاجات خاطئة مثل تلك التى تحدث عندما تؤثر بعض الطفرات النامية فى مزارع مختلطة على الشكل المظهرى لطفرة أخرى نامية معها فى بيئة واحدة بمعنى أن خلايا طفرة معينة تعطى نوعاً مميزاً من المستعمرات يمكنها أن تعطى نوعاً مختلفاً من المستعمرات إذا ما نميت مجاورة لمستعمرات سلالة بكتيرية أو طفرة أخرى . وهذا النوع من التغييرات يشبه إلى حد ما ظاهرة syntrophism التى سبق الاشارة إليها فى الفصل السابق من هذا الباب .

وقد وصف Hinshelwood (١٩٤٦) نوعاً آخر من التغييرات الجماعية

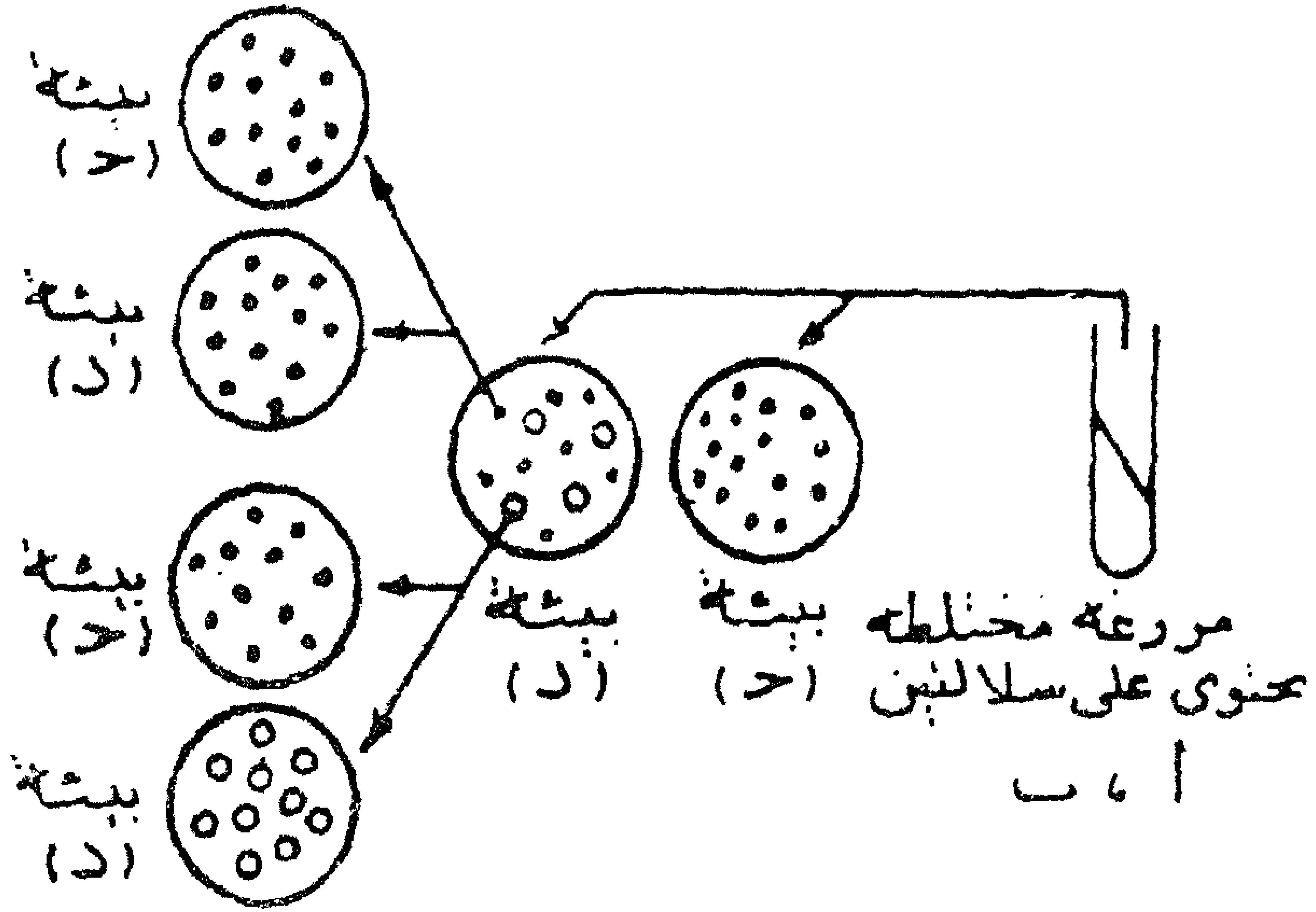
والتى تتمثل فى الزيادة المؤقتة فى قدرة خلايا مجموع بكتيرى معين على مقاومة التأثير المميت لبعض المركبات الكيماوية . وهذه الزيادة فى درجة المقاومة تحدث لبعض الخلايا عقب تعريضها لتأثير المادة السامة ويقال أن هذا يحدث عن طريق عملية أقلمة طويلة المدى long period adaptation . وقد اقترح أن هذا النوع من الأقلمة يتضمن عوامل سيتوبلازمية وأنها ليست نتيجة لتغير فى التركيب الوراثى أو النووى . وهذه الظاهرة تشبه كثيراً ظاهرة التحكم السيتوبلازمى فى بعض النظم الأنزيمية مثل أنزيمات السيتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxidases فى خلايا الخميرة والذى أشار إليه ايفراس Ephrassi (١٩٥١) ويبين أن كل نشاط هذه الأنزيمات يكون محصوراً فى التركيب السيتوبلازمى المعروف باسم الميتوكوندريا . وقد بين Ephrassi وزملاؤه أن هناك ارتباطاً فى مظهر مستعمرات الخميرة ونشاط أنزيمات السيتوكروم أوكسيداز بخلاياها . فالمستعمرات الصغيرة تحتوى على خلايا خالية من نشاط هذه الأنزيمات .

ومما يؤيد أن نشاط هذه الأنزيمات يكون مرتبطاً بعوامل سيتوبلازمية (ميتوكوندريا) وأن هذه الأجسام يمكنها أن تنقسم بداخل الخلايا فان إيقاف هذا الانقسام باستعمال مركبات الأكريفلافين acriflavin يؤدى إلى تكوين مستعمرات صغيرة الحجم خالية من نشاط أنزيمات سيتوكروم أوكسيداز .

ويتميز هذا النوع من التغيرات (والتى يطلق عليها أحيانا الوراثة السيتوبلازمية) عن تلك التى تحدث نتيجة للأقلمة فى أن الأخيرة لا تمكث طويلا إذا ما أبعدت الخلايا عن التأثير المسبب لها .

٢ — **التطبع** : Adaptation

اعتقد كثير من العلماء القدامى مثل Manwarning (١٩٣٤) و Sepilli, (١٩٣٩) فى أن المجاميع البكتيرية ذات مرونة كافية flexible لتسمح بتطبعها المباشر لعديد من الظروف البيئية . وهؤلاء العلماء قد امتنعوا تماماً عن الاهتمام



شكل ٩٣ : رسم تخطيطى يبين التغيرات الجماعية والتى تحدث نتيجة للتشابه فى مظهر المستعمرات لسلالتين مختلفتين فى التركيب الوراثى أ ، ب ، عندما تنمو على بيئة (حـ) بالمقارنة بعدم تشابه مستعمراتهما عندما ينميان على بيئة أخرى (د) .

بالتطفر فى البكتيريات كوسيلة لاحداث التصنيفات المختلفة . وفى غياب البراهين التى تثبت أن العكس هو الصحيح ، فى ذلك الوقت ، فقد اقتنع كثير غيرهم فى نظرية التطبع وأهميتها فى إحداث التصنيفات البكتيرية . وأصبح من الشائع أن يظهر بالأبحاث البكتيريولوجية كثير من المصطلحات مثل تطبع adaptation أو اكتساب acquisation للأشارة إلى التصنيفات البكتيرية . وحتى الآن فلازلنا نرى هذه المصطلحات فى البحوث والمؤلفات البكتيريولوجية والتى لازالت تشير إلى ظاهرة التطبع كأحد الوسائل فى حدوث التصنيفات . لذلك فمن الواجب مناقشة ظاهرة التطبع للتعرف عليها ومدى علاقتها بالتركيب الوراثى للبكتيريات .

من المعروف أنه يمكن تقسيم البكتيريا إلى أجناس ، وأنواع وسلالات على أساس مقدرتها على انتاج وتكوين الانزيمات . من المعروف أيضاً أن الخلية البكتيرية تنتج نوعاً معيناً من الانزيمات لأمتلاكها عوامل وراثية خاصة بأنتاج هذه الانزيمات بكميات كافية تحت مختلف الظروف البيئية . ويطلق على هذا النوع من الانزيمات اسم الانزيمات الأصلية constitutive enzymes

وهناك نوع آخر من الانزيمات يمكن للخلايا أن تنتجه بكميات كافية عندما تتواجد تحت ظروف معينة ، يعرف فقط بالانزيمات التطبعية adaptative enzymes ، مثل الانزيمات التي لا تتكون بالخلايا إلا إذا تواجدت مواد تفاعلها في البيئة . فوجود مواد التفاعل هذه في البيئة تعتبر بمثابة الزناد trigger effect لبدء تكوين وتجهيز هذا النوع من الانزيمات داخل الخلايا ، ومن الملاحظ في مثل هذه الحالات أن البيئة وتركيبها هي التي تحدد أي التفاعلات الانزيمية يمكن حدوثه بالخلية . ويجدر ذكر أن هذا يحدث فقط في حدود القدرة الوراثية للمجموع .

ويمكننا هنا أن نتساءل لماذا يحتاج الكائن البكتيري إلى منبه خارجي external stimulus لكي ينتج انزيمات معينة فقط ؟ وللإجابة على هذا التساؤل نسوق الاحتمالين التاليين :

١ — أن تكوين هذا الانزيم التأقلمي بالخلايا يتطلب وجود مادة تفاعله والتي تعمل كمنبه لبدء تكوين الانزيم . ومن الناحية الأخرى يمكن القول أن الانزيمات الأصلية constitutive تتكون بالخلايا بنفس الدرجة في وجود أو غياب مواد تفاعلها . أو أن التفاعلات الايضية بداخل الخلايا توفر مواد تفاعل الانزيمات الأصلية طبيعياً بكميات كافية وباستمرار داخل الخلايا في حين أن التفاعلات الأيضية الطبيعية لا توفر مواد تفاعل الانزيمات التأقلمية بالكمية الكافية لتنشيط الخلية لأنتاج هذه الانزيمات وأن اضافة مواد التفاعل إلى البيئة يزيد من تركيزها داخل الخلية بالدرجة اللازمة .

٢ — والاحتمال الثانى هو أن الخلايا تفضل تكوين الانزيمات الهامة لنموها وتكاثرها أولا ، أما الانزيمات الأخرى الأقل أهمية والتى تأتى فى المرتبة الثانية من ناحية بقاء الخلية تتكون فيما بعد نتيجة لتأثير البيئة ، إذا ما تبقى بالخلايا فائض من المكونات البروتينية المبدئية protein precursors للانزيمات . من هذا نرى أن الخلية ترغب أولا فى البقاء وحماية قدرتها على التكاثر .

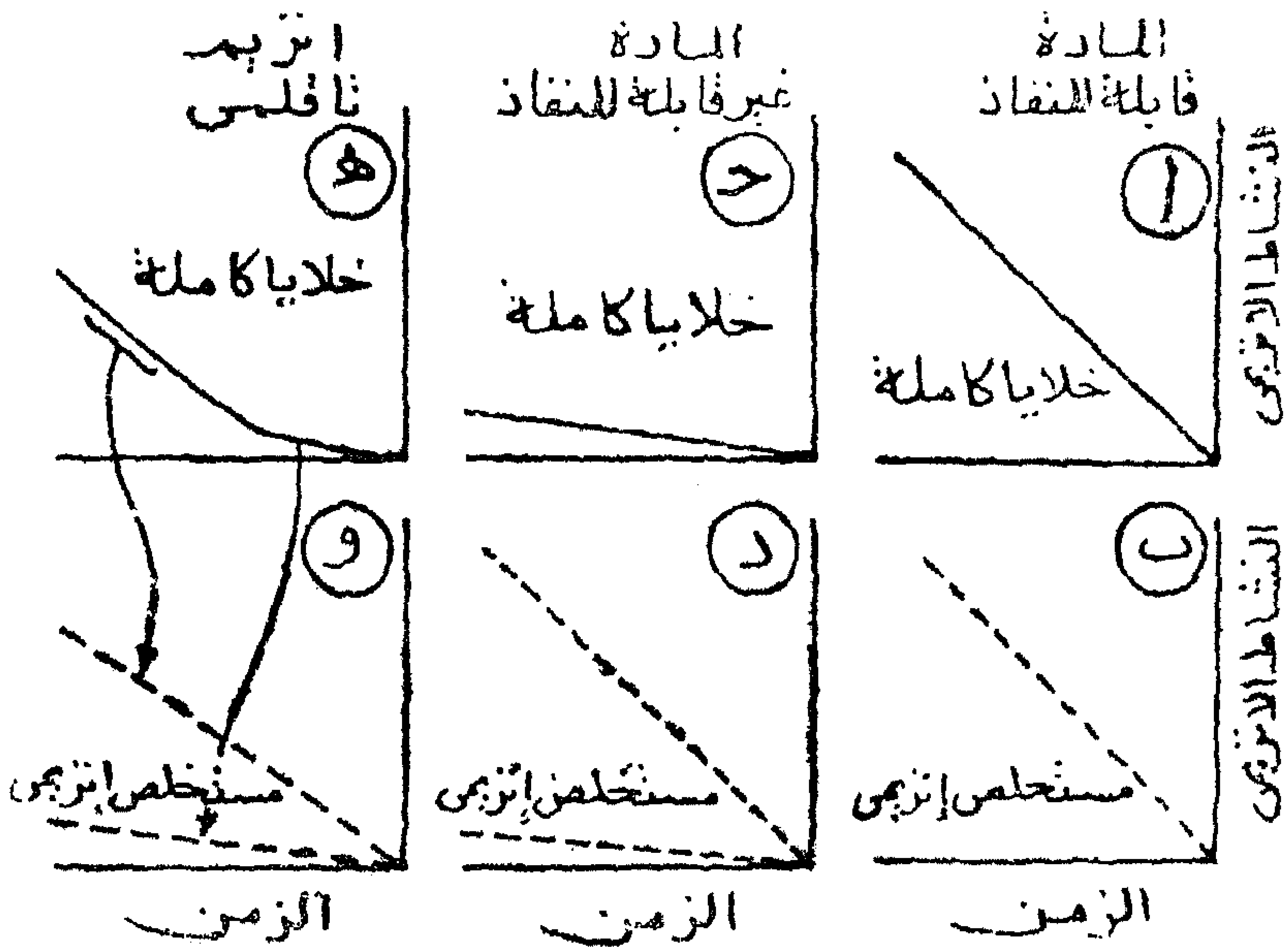
ومن المعروف أنه كلما زادت قدرة الكائن البكتيرى على التطبع الانزيمى بمعنى ازدياد قدرته على استعمال بعض المواد غير الأساسية لنموه وتكاثره كلما اتسع المجال البيئى لهذا الكائن وأمكنه المعيشة تحت ظروف بيئية مختلفة وازدادت مقدرته على مقاومة غير الملائم منها .

وتتميز ظاهرة التطبع الانزيمى بأن كل خلايا المجموع البكتيرى تظهر الاختلافات فى قدرتها على انتاج انزيم معين دفعة واحدة ، وقد لوحظ أن الخلايا يمكنها التطبع وهى متوقفة عن الانقسام ، فقد أمكن للخلايا المغسولة والمستريحة أن تكون انزيمات تأقلمية . وعموماً فان التغيرات ذات المنشأ التأقلمى هى تغيرات مظهرية phenotypic alternation وليست نتيجة لتغير التركيب الوراثى للخلايا .

طرق التأقلم الانزيمى : يمكن عادة دراسة النشاط الأنزيمى للكائنات الحية الدقيقة بأضافة مواد تفاعل هذه الأنزيمات إلى الخلايا المتوقفة عن الانقسام resting cells مع وضع المخلوط تحت ظروف بيئية مناسبة ، وهذا النشاط يمكن تقديره عن طريق سرعة اختفاء مادة التفاعل أو عن طريق تقدير كمية المواد الناتجة عن التفاعل . وطبيعة النتائج التى يمكن الحصول عليها فى مثل هذه الدراسات تتوقف على ما يأتى :

١ — إذا كان الغشاء الخلوى منفذاً لمادة التفاعل وكان الأنزيم المختص متكوناً بالخلية بكمية كافية فسوف نحصل على منحنى للنشاط الأنزيمى (شكل

٩٣ — ا) ، وفى هذه الحالة يبدأ الأنزيم فى مهاجمة مادة التفاعل بعد مدة وجيزة من اضافتها وتستمر سرعة التفاعل ثابتة حتى تنتهى مادة التفاعل وتختفى من البيئـــة . وإذا استخلصت المحتويات الأنزيمية للخلايا وأضيفت هـــذه المستخلصات إلى مادة التفاعل فاننا نحصل على منحنى للنشاط الأنزيمى (شكل ٩٣ — ب) ، يشبه تماماً ذلك المتحصل عليه فى حالة الخلايا الكاملة .



شكل ٩٣ : النشاط الأنزيمى للخلايا الكاملة والمستخلصات الأنزيمية .

٢ — أما إذا كان الغشاء السيتوبلازمى غير منفذ لمادة التفاعل فان مادة التفاعل لا تهاجم اطلاقاً بواسطة الأنزيمات الداخلية intracellular enzymes (شكل ٩٣ — ج) ولكن باستعمال المستخلصات الخلوية الداخلية فاننا نحصل على منحنى منتظم (شكل ٩٣ — د) والذى يبين نشاط الأنزيمات التى استخلصت من الخلايا . من ذلك يمكن التقرير بأن عدم قدرة الخلايا على مهاجمة مـادة التفاعل يرجع إلى عدم قدرة المادة على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى .

وإذا أسفر استعمال المستخلصات الخلوية عن نتائج سلبية فيما يختص بمهاجمة مادة التفاعل المضافة فإنه يمكن تقرير أن هذه الخلايا البكتيرية لا تحتوى على الأنزيم الخاص بمهاجمة مادة التفاعل المضافة . أو إلى فساد الأنزيمات أثناء استخلاصها من الخلايا أو أن الأنزيم الخاص موجود فعلا ولكنه يفتقر إلى مرافقه الأنزيمى . وكما هو واضح فان الباحث لا يكون دائماً متأكداً من تفسيراته للنتائج السلبية .

٣ — إذا كان الغشاء السيتوبلازمى منفذاً لمادة التفاعل ولكن الانزيم الذى يحلل هذه المادة انزيما تطبعياً فاننا سوف نحصل على نتائج كما هو مبين (بشكل ٩٣ — هـ) . حيث نلاحظ أن هناك فترة سكون أو ركود تقع بين اضافة المادة وبدء ظهور نشاط ملحوظ فى تحللها . وفى بعض الأحيان كما سبق أن بينا من قبل ، يكون الإنزيم التطبعى غائباً كلية أو متواجداً بالخلية بكميات محدودة جداً وتبعاً لذلك ينخفض أو يرتفع المنحنى الموازى للقاعدة الأفقية أثناء فترة الركود .

وبأستعمال المستخلصات الخلوية فى هذه الحالة لا يمكن التحصل على تحضيرات إنزيمية نشطة من الخلايا قبل تأقلمها (أثناء فترة الركود) ، ولكن إذا حضرت هذه المستخلصات من الخلايا بعد فترة تأقلمها يلاحظ لها نشاط أنزيمى كبير (شكل ٩٣ — و) .

وفيما يختص بطرق تكوين الأنزيمات التأقلمية نذكر أنها تعتمد على وجود مصدر للطاقة وكذلك مصدر للبروتينا لأنزيمى (المكونات البنائية) والتى هى عبارة عن أحماض أمينية . وهذه الاحتياجات الضرورية لتكوين الأنزيمات التأقلمية قد درست بالتفصيل بالاستعانة بالبكتيريا *E. coli* . حيث وجد أن خلايا هذه البكتيريا لا يمكنها أن تتأقلم فى غياب المواد التى تمثل المصدرين السابقين . وحقيقة فهناك ثلاثة طرق يمكن لجزيئات الأنزيمات التأقلمية أن تنشأ بواسطتها .

أولا : أنها تنشأ نتيجة لتحول جزيئات البولى ببتيدات polypeptdies الكبيرة الحجم بعملية مشابهة لتحول التربسينوجين trypsinogen إلى تربسين trypsin . ويمكننا أن نفترض حينئذ أن المواد التى تشجع حدوث التأقلم هى عبارة عن مواد منشطة activators تعمل على تنشيط عمليات تحول المركبات المبدئية من البولى ببتيدات إلى بروتين انزيمى بطرق مباشرة أو غير مباشرة .

ثانياً : أن جزيئات الأنزيمات التأقلمية تنشأ فقط نتيجة لارتباط الأحماض الأمينية الحرة لتكون تركيباً أكثر تعقيداً وهو البروتين الانزيمى وأن البولى ببتيدات الأصلية بالخلية لا تتدخل فى تكوينها .

ثالثاً : تفترض هذه الطريقة أن الطريقتين السابقتين يتم حدوثهما بمعنى أن الأنزيمات التأقلمية تتكون فقط عندما تضاف الأحماض الأمينية الحرة فى وجود إطار من البولى ببتيدات .

ومن المعروف أن الأنزيمات هى عبارة عن بروتينات وكل أنزيم يمثل نوع بروتين معين . وبقياس نشاط انزيم معين أو آخر بالخلية يمكننا أن نأخذ فكرة عن درجة ثبات البروتينات أو تحولاتها بعضها إلى بعض عندما يحدث تأقلم انزيمى .

علاقة التطبع الانزيمى بالوراثة :

بين كل من مونود وأنديرو Monod and Andereau (١٩٤٦) أن قدرة الخلايا البكتيرية على التطبع الأنزيمى تكون محكومة بالتركيب الوراثى لهذه الخلايا . فقدرة سلالة البكتيريا *E. coli mutabile* على استعمال سكر اللاكتوز تعتمد مبدئياً على حدوث طفرة وأن هذه الطفرة هى التى تجعل الخلايا ذات قدرة على تكوين الأنزيم التأقلمى المسئول عن مهاجمة سكر اللاكتوز . وقد حصل كل من كلين ودودروف klein and Doudoroff (١٩٥٠) على

نتائج مشابهة فى استهلاك سكر الجلوكوز تأقلمياً بواسطة البكتيريا *Pseudomonas putrefaciens* . وعلاقة تكوين الأنزيمات التطبعية بالوراثة قد تم تأكيده من دراسات ليدربرج Lederberg (١٩٥١) على ظاهرة اعادة التشكيل الوراثى recombination بالبكتيريا بالاستعانة بالبكتيريا *E. coli* والتى تضمنت دراسات على الصفات التأقلمية مثل تخمر كل من سكر اللاكتوز والمالتوز .

التطبعات المتلاحقة : Simultaneous adaptations

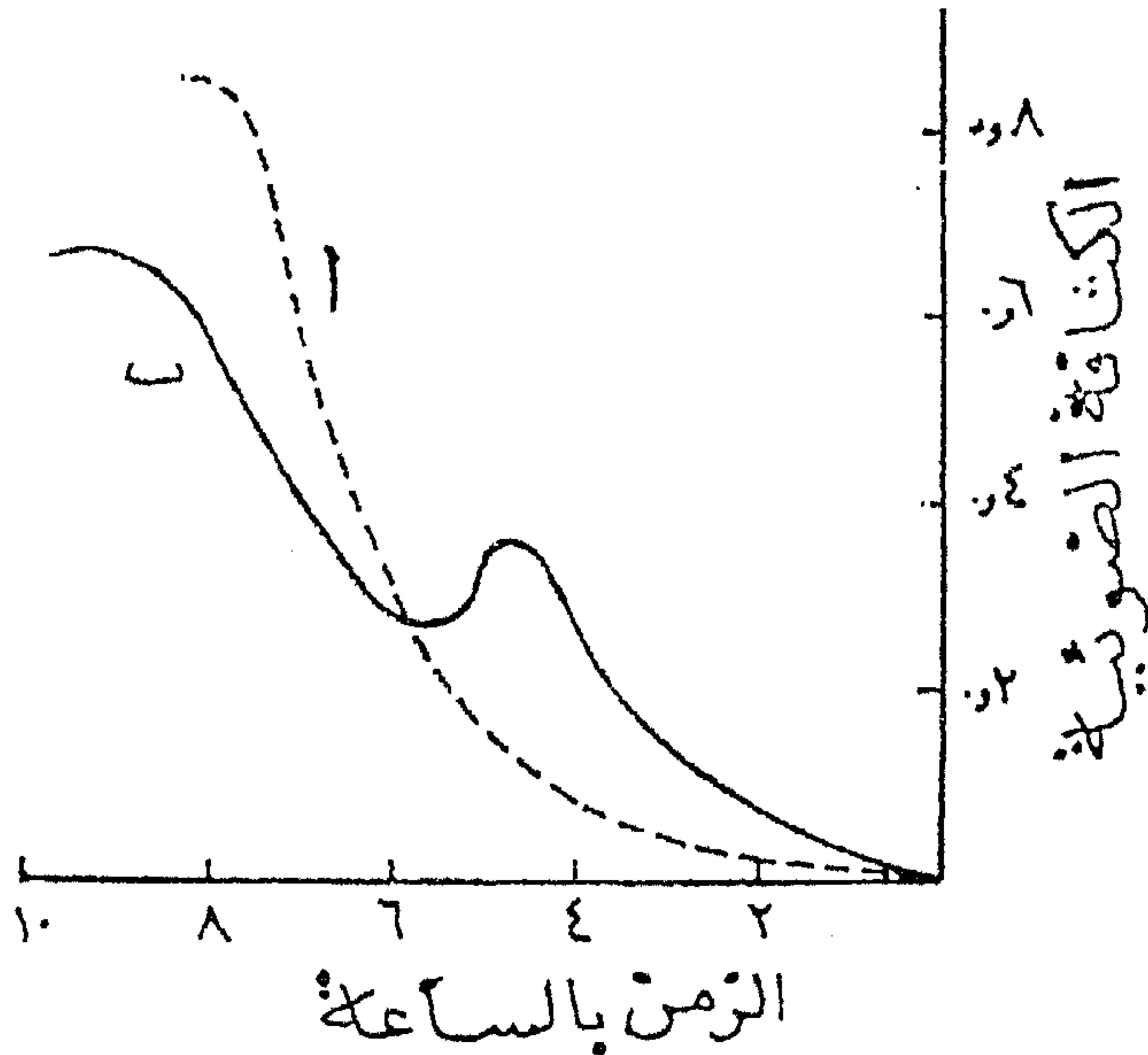
هناك كثير من الأدلة توضح تحكم العوامل الوراثية فى انتاج الأنزيمات التأقلمية، حيث يوجد عامل وراثى (جين) معين لكل انزيم تطبعى فى حين أنه ليس هناك تحكم وراثى لتهيئة الطفرات لمهاجمة المواد المختلفة فى نفس الوقت عن طريق تكوين انزيمات تأقلمية . إلا أن البكتيريات التى تستجيب تطبعياً إلى مادة تفاعل واحدة يمكنها أن تنتج مواداً وسطية تعمل بدورها كموادتفاعل لتكوين انزيمات تطبعية أخرى فى نفس الوقت . من ذلك نرى أن اضافة مادة تفاعل واحدة يمكنه أن يبدأ سلسلة من التفاعلات chain reaction نتيجة لتكوين عديد من الأنزيمات التطبعية . وقد لاحظ ستانير Stanier (١٩٤٧) هذه الظاهرة لأول مرة وأطلق عليها اسم التطبع المتلاحق simultaneous adaptation واقترح استعمالها كطريقة لمعرفة طبيعة المواد الوسطية فى التخليقات الحيوية لبعض المركبات الايضية وتتبع الخطوات المختلفة للتفاعلات الأيضية التأقلمية . ومن أمثلة التفاعلات الأيضية التى تعتمد على انزيمات تأقلمية والتى درست عن هذا الطريق تأكسد حمض الخليك ومركبات دورة كربس وتأكسد المركبات الحلقية ، وأكسدة التربتوفان والتايروسين والبيورينات .

تدخل مواد التفاعل فى تكوين الانزيمات التأقلمية :

قد تم الحصول على معلومات عديدة فيما يختص بالتدخل التنافسى competitive interaction لبعض مواد التفاعل التى تهاجم تأقلمياً فى عمليات تخليق بعض

الأنزيمات التأقلمية المعينة بالخلايا والتى تهاجم مواد تفاعل أخرى . فمثلا عند تنمية البكتيريا *Bacillus subtilis* فى بيئة محتوية على د–فركتوز ، ل – ارابينوز يمكن ملاحظة دورتين متتاليتين للنمو ومنفصلتين عن بعضهما بفترة ركود أو قلة فى النمو (شكل ٩٤) . وقد بين Monod (١٩٤٧) أن كل دورة من دورتى النمو تناظر الاستهلاك الكلى لواحد من السكريات المضافة كل بدوره .

والمادة التى تستعمل فى الدورة الثانية للنمو لا تهاجم اطلاقاً إلا بعد استهلاك الخلايا لكل محتويات البيئة من المادة الأولى. وقد دلت الأبحاث أن هذا يرجع إلى أن وجود المادة الأولى تمنع الخلايا من تكوين الأنزيمات التأقلمية الخاصة بمهاجمة



شكل ٩٤ : (ا) منحنى طبيعى لنمو البكتيريا *Bac. subtilis* فى بيئة تركيبية محتوية على د–ما نوز كمصدر للكربون . (ب) منحنى نمو نفس البكتيريا فى بيئة تركيبية تحتوى على سكر د – فركتوز + ل – ارابينوز كمصدر للكربون . لاحظ أن المنحنى مزدوج القمة diauxic

المادة الثانية وتعرف هذه الظاهرة باسم المنع التنافسي competitive inhibition . وظاهرة التنافس هذه (شكل ٩٤) يبدو أنها تماثل الدورات المتتابعة في الزيادة في تعداد الخلايا عند حدوث تطفر أو انتخاب بالرغم من اختلاف عامل الوقت بين الظاهرتين . من ذلك نرى أن التنافس الخارجي intercellular competition (تطفر أو انتخاب) والذي يحدث في مجموع مختلط وراثياً (of different genotype) يشابه كثيراً التنافس الداخلي intracellular competition (تأقلم أنزيمي) والذي يحدث في مجموع متماثل وراثياً of similar genotype وأن هذا التشابه قد يقودنا إلى تأييد الافتراض بأن للعوامل السيتوبلازمية cytoplasmic factors التي تتكاثر بالخلايا دوراً ملحوظاً في تكوين الأنزيمات التأقلمية .

وأخيراً فقد أظهرت الأبحاث أنه ليس من الضروري استمرار وجود مادة التفاعل المعينة كشرط مبدئي لتكوين الأنزيم التأقلمي ففي بعض الحالات المعينة يتكون انزيم البنسليناز penicillinase (وهو انزيم تأقلمي) في خلايا البكتيريا *Bac. cereus* عندما تتعرض هذه الخلايا لفترة وجيزة للبنسلين ، وأن هذا يكفي لتكوين الخلايا لهذا الأنزيم بكمية كبيرة حتى في غياب مادة التفاعل . ولكن وجد أن قدرة البكتيريات على افراز أو انتاج الأنزيمات التأقلمية في غياب مادة تفاعلها لا تستمر طويلا حيث لا تستمر أكثر من عدة أجيال قليلة . وبهذا يمكن تمييز هذه الاختلافات عن تلك الناتجة عن التطفر أو الانتخاب .

٣ — البلازميدات Plasmids

توجد بالسيتوبلازم عناصر وراثيـة خارج الكروموسوم لا تندمج مع الكروموسوم يطلق عليها البلازميدات Plasmids وقد لوحظت الأهمية الطبية للبلازميدات لأول مرة في اليابان في ١٩٥٩ عندما إنتشر مرض الدوسنتاريا المتسبب عن بكتيريا وقد أمكن الحصول على عزلات طفرية من البكتيريا

المسببة على معدل مرتفع جدا مقاومة للمواد الكيماوية التى تستعمل فى علاج هذا المرض وهى مركبات السلفاوالاستربتوميسين والكلورامفينيكول والتترا سيكلين . وبدراسة هذه المتنوعات وجد أنها نشأت نتيجة لنقل صفة المقاومة من نوع لآخر بواسطة التركيبات المعروفة بإسم البلازميدات .

والبلازميدات قد تتحكم فى عدد من الوظائف وتنتشر بين الأجناس البكتيرية المختلفة . وجدول ١٦ يبين بعض الأنواع البكتيرية المحتوية عليها وكذلك الصفات التى تتحكم فيها .

وكقاعدة عامة فإن الصفات التى تتحكم فيها جينات البلازميدات تضيف الخلية قدرات إضافية لم تكن موجودة بها من قبل ولكن هذه الصفات ليست ضرورية لحياة الخلية أى يمكن للخلية أن تعيش وتتكاثر فى غياب البلازميدات

جدول ١٦ : بعض البلازميدات فى البكتيريات والصفات التى تتحكم فيها

الكائن	الخاصية
E, coli. Salmonella,. Shigelia و *Neisserta*	المقاومة للمضادات الحيوية .
E. coli	إنتاج الـ Colicin
E. coli	إنتاج الـ Enterotoxin
Pseudomonas	تحطيم أو تكسير الـ Camphor
Agrobacterium tumefaciens	تكوين الأورام فى النبات .
Pseudomonas	تحليل الزيت .

ومن المجاميع الأساسية للبلازميدات عوامل المقاومة Resistance or R factors .
ومن الناحية السطحية فإن عوامل المقاومة تشبه عوامل الخصوبة F⁻particles

فى ملامح معينة فكلاهما عناصر وراثية خارج الكروموسوم وأنها تتكون من جزئين فعامل نقل المقاومة a resistance transfer factor (RTF) الخاص بنقل البلازميد علاوة على جينات متعددة multiple genes متعلقة بالمقاومة للجرعات المرتفعة من المواد الكيماوية R genes . ويمكن للخلايا أن تتخلص منه إذا ما عوملت بالـ acridine orange . ومن الملامح المميزة غير العادية للعامل R أنها تنتقل بسرعة من مجموع مقاوم إلى مجموع حساس للمضاد الحيوى عن طريق قريب الشبه بالتزاوج الجنسى وهكذا تمنح المقاومة إلى الخلايا المستقبلة . وكذلك فإن النقل لا يحدث فقط بين سلالات من نفس النوع ولكن أيضا بين أنواع الأجناس المتقاربة مثل
Salmonella, Shigella, Escherichia, Serratia, Klebsiella, Yersinia, Proteus

وقد لوحظ أيضا أن العامل R يمكن أيضا أن ينتقل بسرعة بين أعضاء من أجناس أخرى غير متقاربة مثل الأجناس *Pseudomonas* و *Vibrio* وذلك عن طريق التلامس بين الخلايا .

وهناك عدة آراء فيما يختص بمنشأ الـ R genes . منها أن بعض جينات المقاومة R genes يمكنها أن تهاجر على أجزاء من أحد وحدات البلازميدات إلى وحدات أخرى من نفس الخلية وكذلك تقدر على القفز Jumping من البلازميد إلى كروموسوم الخلية .

هذه الأجزاء الصغيرة من الـ DNA والتى لا يزيد محتواها أكثر من جين واحد تسمى Transposons وهذه لا تستطيع تكرار نفسها ذاتيا إذا ما وجدت منفردة بل يجب أن ترتبط مع البلازميد أو الكروموسوم لكى يحدث لها تكرار . وقد لوحظ أن الجينات المفردة تكون متماثلة فى كل الخلايا إذا ما حملت صفة واحدة . وعلى هذا فكل الجينات المفردة التى تحمل صفة المقاومة للبنسلين R genes تكون متشابهة تماما حتى ولو وجدت فى خلايا تنتمى إلى أجناس أو أنواع بكتيرية مختلفة . ويبدو واضحا أن وجود العامل R يمثل تهديدا خطيرا لعلاج الأمراض الميكروبية بالمضادات الحيوية . حيث أن ذلك

يعجل لظهور سلالات مقاومة للمضاد الحيوى لظهور أعداد متزايدة فى المجاميع البكتيرية نتيجة للتطفر الذى يعقبه الإنتخاب من ناحية وكذلك عن طريق نقل الجينات المقاومة إلى الخلايا الحساسة من ناحية أخرى .

وبالإضافة إلى وجود البلازميدات والتى تعتبر مركز للجينات المتخصصة لمقاومة المضادات الحيوية فإن كثيراً من الجينات الكروموسومية تكون مسئولة أيضا عن المقاومة لنفس المضادات الحيوية وفى عدد من الحالات تختلف ميكانيكية المقاومة mechanism of resistance لنفس المضاد الحيوى بإختلاف الجين المقاوم سواء كان جين كروموسومى أو جين خارج الكروموسوم تحمله البلازميدات .

ويوجد نوع آخر من البلازميدات عبارة عن وحدات وراثية مكونة من الـ ADN يطلق عليها عوامل البكتيروسين bacteriocin factors وهى عبارة عن أجزاء من الـDNA بشكل دائرى مغلق يحمل المعلومات الوراثية الخاصة بتخليق المواد المعروفة بأسم bacteriocins وهى مواد بروتينية سامة للخلايا البكتيرية التى تكونها . وقد تحتوى هذه المواد على بروتين ، وكربوهيدرات كما أن البعض الآخر من هذه المواد يكون له خواص حبيبات الفيروس غير الناضج . وهناك عدد كبير من الـ bacteriocins ذات تخصص مرتفع فى فعلها على الخلايا فقد وجد أن الـ Bacteriocins التى تنتج بواسطة نوع معين تقتل فقط السلالات لنفس النوع أو سلالات من أنواع قريبة منه ، ويبدو أنها تعمل عن طريق إتصالها بمواقع إستقبال receptor sites معينة على الخلايا القابلة للإصابة . وأن ميكانيكية قتل الخلية تختلف بإختلاف نوع الـ Bacteriocins المتكون .

فتوجد مجموعة تركز تأثيرها على الأغشية السيتوبلازمية ومجموعة أخرى يكون تأثيرها موجها إلى الريبوسومات ، ومن الملاحظ أن البكتيريا التى تمتلك هذا النوع من البلازميدات لا تنتج كميات كبيرة من bacteriocin

إلا إذا عوملت بأحد العوامل التطفرية مثل التعرض للأشعة فوق البنفسجية . فبعد إجراء هذه المعاملة تنتج الخلايا كميات ملموسة من الـ bacteriocin . وبذلك تقتل الخلايا نفسها .

ويستفاد من الـ Bacteriocins في التميز بين سلالات نفس النوع من البكتيريا عند تشخيص الحالات البكتيرية المرضية .

ولو أن كثيرا من البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام تخلق الـ Bacteriocins إلا أن المواد المعروفة بالـ Colicins والتي تنتجها *E. coli* هي التي درست أكثر من غيرها . ووجد أن بعض العوامل التي تنتج الـ Colicins (Colicinogenic factors) تعتبر بلازميدات والبعض الآخر تعتبر إبيسومات ، وإذا إندمجت في الكروموسوم فإنها تسبب نقل الكروموسوم . كما أنها إذا كانت خارج الكروموسوم فإنها تنتقل بسرعة إلى الخلايا المستقبلة .

المراجع

Hnshelwood, C.N. 1946. The chemical Kinetics of bacterial cell. Oxford Univ. Press. London.

Klein, H.P. and Doudoroff, M., 1950. J. Bacteriol. 59 : 739.

Lederberg, J. 1950. J. Bacteriol., 60 : 381.

Levy, J., J.J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.

Monod, J. and A. Andereau. 1946. Ann. Inst. Pasteur 72 : 868.

Nester, E.W., C. E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York 769 p.

Stanier, R.Y. 1947. J. Bacteriol. 54 : 339.

Stanier, R.Y. 1950. Ann. Rev. Microb., 5 : 35.

Stanier, R.Y. 1950. Bact. Rev., 14 : 179.

الفصل الثالث

إعادة تشكيلات الصفات الوراثية
فى البكتيريات المتزاوجة جنسيا
Sexual recombination in bacteria

يعتبر التطفر واعادة تشكيل الصفات الوراثية فى الكائنات الراقية التى تتكاثر جنسياً من أهم مصادر التصنيفات .

وفى الحالة الأخيرة تنشأ تصنيفات جديدة نتيجة لإعادة تشكيل الكروموسومات غير المتشابهة أو العوامل المختلفة المتواجدة على كروموسوم واحد ، حيث يشترك كل من الأب والأم فى توفير نصف هذه الكروموسومات أو العوامل .

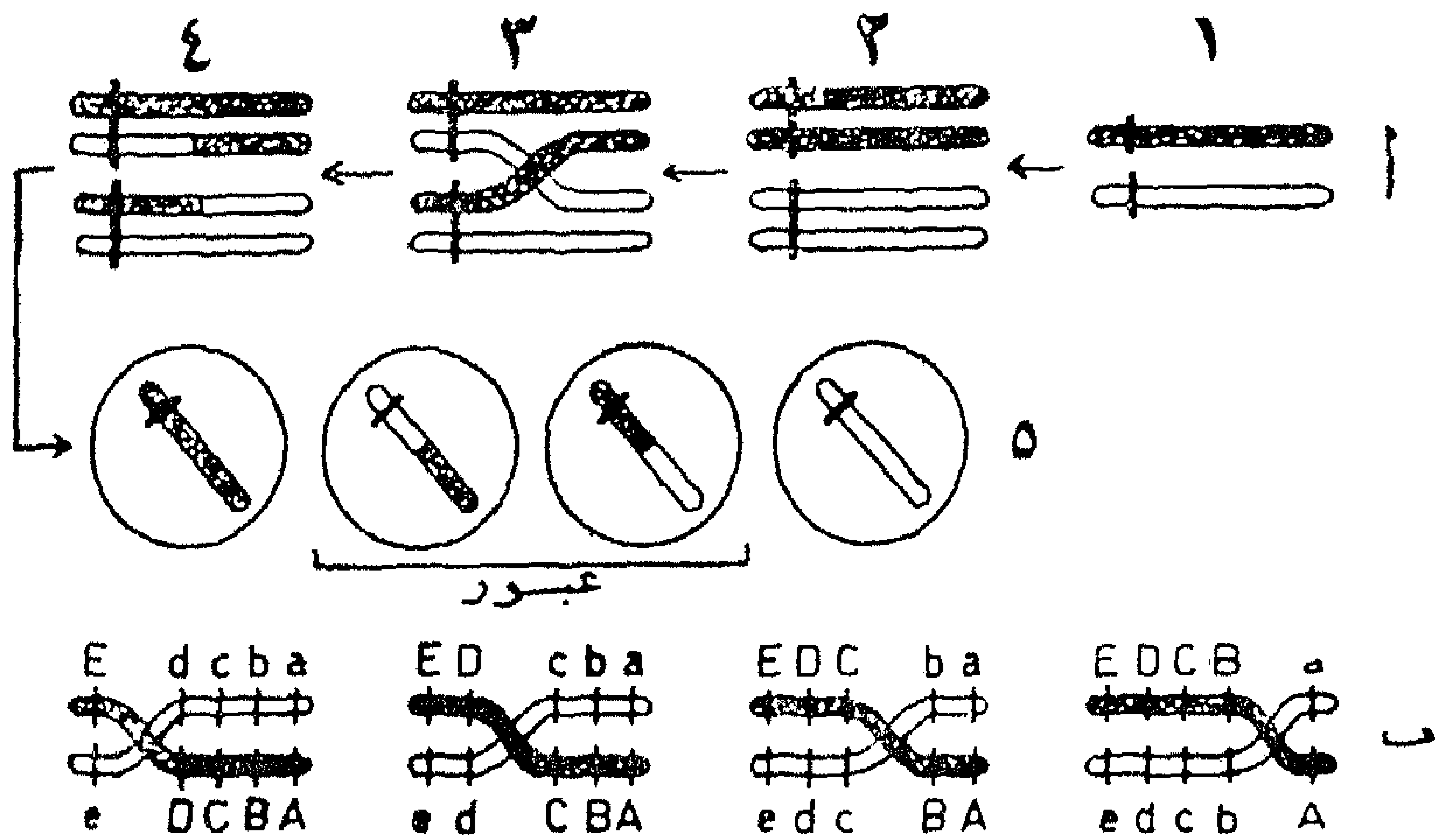
وواضح جداً أن اعادة التشكيل الكروموسومى ينتج عنه تركيبات وراثية جديدة ، وذلك عن طريق حدوث توليفات كروموسومية جديدة بالجاميطات الناتجة . وكل الجينات المحمولة على كروموسوم واحد أو كما يطلق عليها عادة المجموعة الارتباطية linkage group تظل معاً أثناء عملية انعزال الكروموسومات .

وحتى الجينات التى قد تكون محمولة على نفس الكروموسوم يمكن أن يعاد تشكيلها عن طريق عملية تعرف بالعبور crossing over . وفى هذه العملية يحدث تبادل بين الأجزاء الكروموسومية للكروماتيدات الخاصة بنفس الزوج من الكروموسومات ، وقد أمكن إثبات حدوث هذه الظاهرة فى الكائنات الراقية عن طريق الدراسات السيتولوجية ، وعن طريق تجارب التربية .

كيفية حدوث العبور بالكائنات الراقية :

يبين (شكل٩٥) وصفا مختصراً لتبادل الأجزاء الكروموسومية نتيجة لظاهرة

العبور . وقبل انعزال أفراد كل زوج من الكروموسومات فانها تكون متصلة طولياً ببعضها بدرجة كبيرة . وعند ذلك الوقت فانه يمكن تبادل أجزاء منها بطريقة تتضمن حدوث كسر ولحام مباشر .



شكل ٩٥ : (ا) رسم تخطيطى يبين خطوات العبور ١– كروموسومان متشابهان قبل الإنقسام الاختزالى ٢ – ينشق كل كروموسوم طولياً ويكون كروماتيدتين ٣ – تتبادل أجزاء كروماتيدة واحدة من كل كروموسوم ٤ – يتم العبور حيث تتكون كروماتيدتين مختلفتين تظهران فى الجاميطات ٥ – بعد اتمام الإنقسام الاختزالى يلاحظ أن الجاميطتين من الأربعة تحتوى على ناتج العبور . (ب) رسم تخطيطى لاحتمال حدوث عبور بين خمسة أزواج من الجينات متواجدة على الكروموسومات فى أمكنة مختلفة . لاحظ أن كل من العوامل E ، A تنفصل عن بعضها بكل احتمالات العبور الممكن حدوثها .

ويبين «شكل ٩٥» حدوث التبادل بين كروماتيدتين فقط من الأربعة كروماتيدات chromatids الخاصة بزوج كروموسومى ، وتبعاً لذلك فان جاميطتين من الأربعة جاميطات الناتجة عن عملية الانقسام الاختزالى meioses سوف تحتوى على كروموسومات ذات تركيبات وراثية جديدة حدثت نتيجة لحدوث العبور بالكروماتيدات ، فمثلا إذا كان أحد أفراد زوج الكروموسومات

يحمل العوامل EDCBA وكان الفــرد الآخر يحمل العوامل e b c b a ، فإن حدوث عبور بين العوامل B و C أو بين b و c يؤدى إلى حدوث توليفات كروموسومية جديدة هى edc BA ، EDCba .

والجاميطات التى تحمل هذه التشكيلات الكروموسومية الجديدة new recombinants تنقل هذا الترتيب إلى أجيالها المتعاقبة حيث يمكن مشاهدة التغيرات أو التصنيفات التى تظهر عليها ، وحيث أن احتمال حدوث العبور بين العوامل الوراثية المتباعدة عن بعضها على الكروموسوم احتمال كبير ، لذا فقد أمكن عن طريق درجة توزيع الأفراد التى حدث بها عبور frequency of crossing over معرفة ترتيب العوامل الوراثية على الكروموسومات .

وكما هو مبين (بشكل ٩٥) فان العبور يتم بدرجة أكبر بين العوامــل المتباعدة عن بعضها A ، E على الكروموسوم عنها فى حالة العوامل المتقاربة ببعضها مثل A ، B وقد استحدث مورجان Morgan (١٩١٥) طريقة تحليل الأفراد الناتجة المتحصل عليها نتيجة للعبور من تجارب التربية فى حشــرة الدوروسوفيلا فى رسم خرائط الارتباط linkage maps لكل كروموسوم حيث أمكنه تحديد موقع كل جين على الكروموسوم تبعا للمسافات الـــتى تحددها وحدات العبور cross over unites .

حدوث العبور بسلالة البكتيريا *E. cli* K 12

من الواضح أن ظاهرة إعادة توليف الصفات الوراثية Recombination تحدث فقط فى الكائنات التى تتكاثر جنسياً حيث يكون الأب مختلفاً عن الأم وراثياً بمعنى أن كل منهما يحمـــل كروموسومات غير متشابهة وتجمع هـــذه الكروموسومات المختلفة فى الأجيال الناتجة عن التزاوج ينتج عنه تجمعات كروموسومية جديدة .

وحيث أن التكاثر الجنسى فى البكتيريا ظل من الأمور المشكوك فى حدوثها لفترة طويلة بالرغم من المحاولات التى قام بها كثير من الباحثين لمحاولة مشاهدته

أو اثباته بالبكتيريا عقب الزراعة المختلطة للسلالات المختلفة من البكتيريا *E.coli* (Browning «١٩٠٨») والبكتيريا *Acetobacter* sp. (Sherman & Wing. «١٩٣٧») والبكتيريا *Xanthomonas stwartii* (Gowen & Lincolin «١٩٤٢») إلا أنه فى عام ١٩٤٧ تمكن كل من تاتم وليدربيرج Tatum & Lederbeg من إعطاء الأدلة الحاسمة على حدوث التزاوج الجنسى والعبور فى السلالات التطفرية من سلالة البكتيريا *E. coli* k - 12 حيث استعملا سلالات طفرية ذات قدرة تخليقية ناقصة auxotrophic mutant strains لا تقدر على النمو على بيئة الحد الأدنى minimal medium وعند التنمية المختلطة لسلالتين من هذا النوع أمكنهما عزل سلالات ذات قدرة تخليقية كاملة prototrophic تمكنها أن تنمو على بيئة الحد الأدنى . وبالفحص الدقيق للسلالات الناتجة أمكن معرفة أنها عبارة عن تجميع لصفات كل من السلالتين ذات القدرة التخليقية الناقصة والتى زرعت معا .

وكانت صفات سلالات الآباء التى استعملها كل من تاتم . وليدربيرج كما يلى :

أحد الآباء (سلالة ٥٨ — ١٦١) تتطلب اضافة المواد الآتية لبيئة الحد الأدنى :—

بيوتين Biotin (B^-) ، ميثيونين Methionine (M^-) الأب الثانى (سلالة W- ١١٧٧) يتطلب اضافة المواد التالية لبيئة الحد الأدنى :

ثريونين Therionine (T^-) ، ليوسين Leucine (L^-) ثيامين Thiamine (B_1^-)

كما أن هذه السلالة كانت تحمل أيضاً العوامل الوراثية التالية علاوة على العوامل السابق ذكرها : ليس لها القدرة على تخمير سكر اللاكتوز (lac^-) وسكر المالتوز (Mal^-) ، والمانيتول (Mtl^-) ، والزيلوز (Xyl^-) ، والأرابينوز (Ara^-) ، كما أنها كانت مقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى (V_1^r) ومقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين (S^r) .

وكما سبق أن بينا أن السلالتين المذكورتين أمكن الحصول عليها عن طريق سلسلة من الخطوات التطفرية الفردية من السلالة البرية K_{-12} الأصلية ذات القدرة التخليقية الكاملة prototroph .

ويمكن للبعض أن يعترض على نتائج تاتم وليدربيرج من ناحيةأن السلالات التى أمكن عزلها والقادرة على النمو على بيئة الحد الأدنى protrophic قد لا تكون ناتجة عن التزاوج بين السلالتين auxotrophic بل هى نتيجة إلى التراجع التطفرى reversal mutation لذلك فقد احتاط هذان الباحثان لمثل هذا الانتقاد فأوضحا أنهما لم يلاحظا التراجع التلقائى لهذه الطفرات ، وأضافا أن مثل هذا التراجع إذا حدث فى حالة السلالة الأولى يجب أن يتم فى عاملين وراثيين معاً B^- ، M^- وفى حالة السلالة الثانية فى ثلاث عوامل وراثية T^- ، L^- ، B^- وأن هذا لا يمكن توقع حدوثه بالمعدل التى نشأت عليه السلالة prototrophic ، كما سبق أن بينا أن التطفر الطبيعى فى حالة التراجع فى صفة واحدة (جين واحد) مثل : $B^- \longrightarrow B^+$ يحدث على معدل ١×١٠^{-٧} وأن التراجع فى حالة صفتين (جينين) فى آن واحد $B^- M^- \longrightarrow B^+ M^+$ يجب أن يحدث على معدل ١×١٠^{-١٤} وفى حالة ثلاث صفات (ثلاث جينات) مثل $T^- L^- B_1^- \longrightarrow T^+ L^+ B_1^+$ يجب أن يحدث على معدل ١×١٠^{-٢١} . ولكن السلالة الكاملة القدرة التخليقية protrophic والتى عزلها تاتم وليدربيرج بعد الزراعة المختلطة لسلالتين auxotrophic نشأت على معدل ١×١٠^{-٧} فقط بمعنى أن خلية واحدة protroph نشأت ضمن كل عشرة ملايين خلية زرعت من خلايا كلا الأبوين . وأمكن التعرف على التركيب الوراثى لمثل هذه الخلايا القليلة العدد التى نشأت عقب الزراعة المختلطة وهو $B_1^+ L^+ T^+ M^+ B^+$.

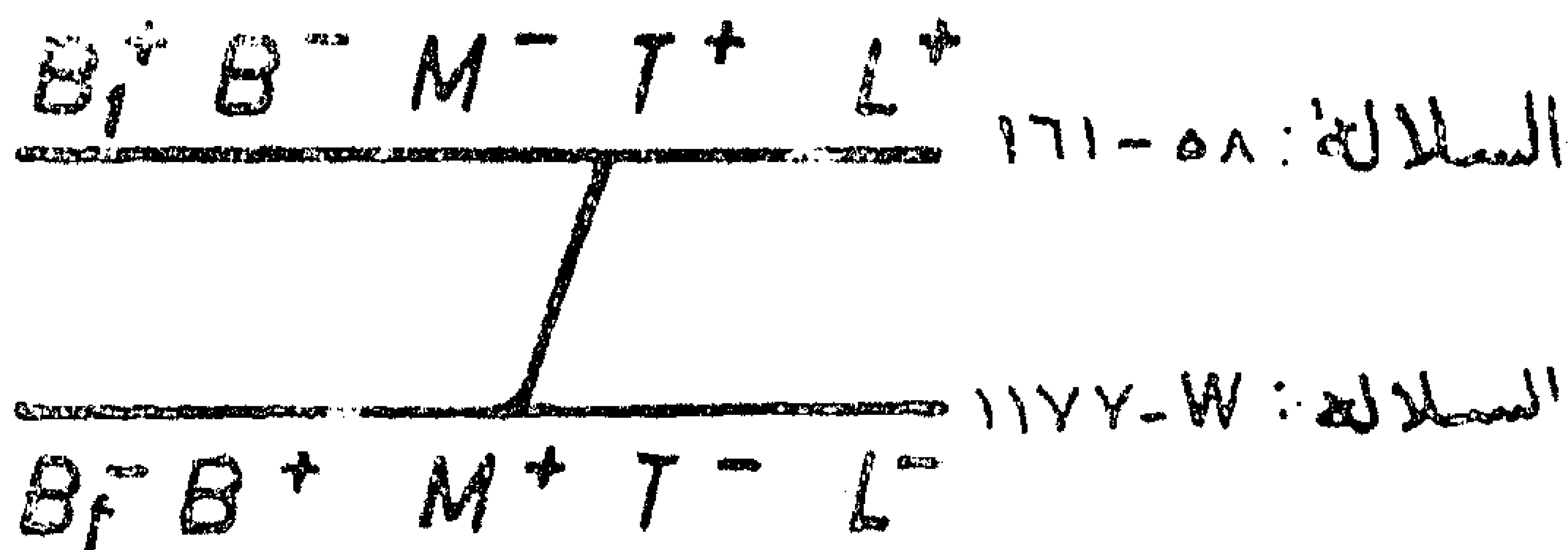
مثل هذه النتائج لا يمكن تفسيرها إلا إذا كانت السلالات المستعملة تتكاثر جنسياً وأن الإتحاد الجنسى sexual fusion بين خلايا الآباء ينشأ عنه هذه التشكيلات الوراثية الجديدة .

وقد أثبتت الدراسات الحديثة باستعمال المجهر الألكترونى حدوث الالتحام الجنسى بين خلايا البكتيريا *E. coli* والالتحام الجنسى بين خلايا البكتيريا *Agrobacterium tumifaceins* والذى يمكن تأييده بملاحظة الأفراد ذات التشكيلات الوراثية الجديدة والناتجة عن هذا التزاوج .

فعند تنمية السلالات المذكورة فى المثال السابق على بيئة الحد الأدنى المضاف إليها الثيامين فإنه يمكننا أن نعزل عن مثل هذه البيئة السلالة الناتجة عن التزاوج وذات التركيب الوراثى $B^+M^+T^+L^+B_1^-$ علاوة على السلالات ذات القدرة التخليقية الكاملة protrophic $B^+M^+T^+L^+B_1^+$.

إلا أن عدد المستعمرات فى السلالة الأولى المتطلبة للثيامين (B_1^-) يكون أكثر بكثير من السلالة الأخرى التى يمكنها تخليق الثيامين (B_1^+) ، ومثل هذه النتائج تبين أن الانعزال لا يحدث عفويا وأن هناك قوى خاصة يمكنها أن تتحكم فى إحتمال دخول جين من جينات الآباء وإنفصاله عن نظامه الأصلى واشتراكه مع الجينات الأخرى ، بمعنى أنه يوجد بالبكتيريات مجموعات إرتباطية linkage groups تشبه تلك التى توجد بالكائنات الراقية .

ولإيضاح ما تقدم يجمل بنا أن نبين التركيب الوراثى لكروموسومات كل من السلالتين المتزاوجتين وكيفية حدوث عبور واحد أو أكثر بكروموسوماتها .

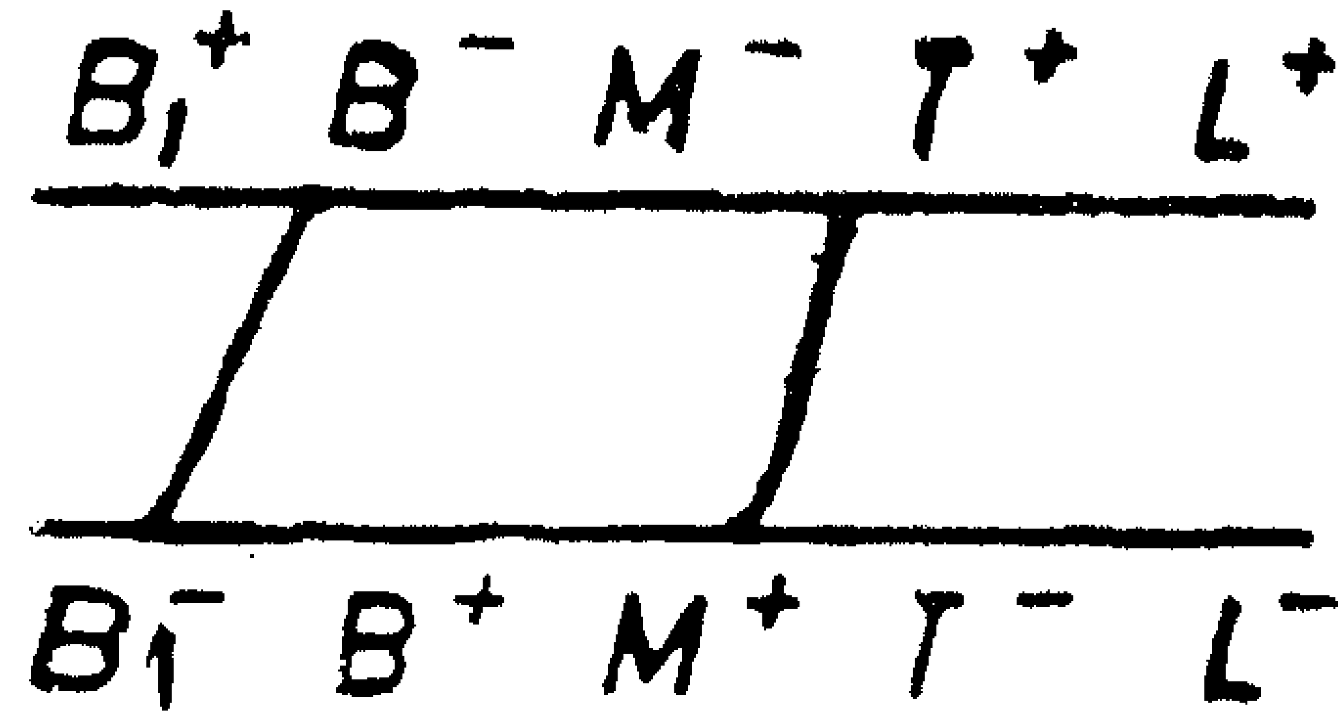


ففى حالة حدوث عبور واحد single cross over بين الجينات M ، T فإنه يمكن الحصول على التشكيلات ذات التركيب الوراثى التالى :

$B_1^- B^+ M^+ T^+ L^+$

$B_1^+ B^- M^- T^- L^-$

فى حـــين أن الحصول على أفراد بالتركيب الوراثى $B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$ يتطلب حدوث عبور متضاعف بين العوامل T ، M و B ، B_1 كما هو مبين :



هذا واحتمال حدوث عبورين فى وقت واحد أقل كثيرا من احتمال حدوث عبور واحد لزوج واحد من الكروموسومات . ويمكن بفحص الصفـات المظهرية للسلالات الناتجة ومدى توزيعها فى المجموع التعرف على المجاميـع الارتباطية المختلفة . أو بمعنى آخر التعرف على الجينات التى تنتقل معـاً وذات الصلات الإرتباطية linkage relationships وقد أسفرت هذه الدراسات عن معرفة أن الجينات البكتيرية تكون مرتبة ترتيباً سطحياً مستقيما . linearly arranged على كروموسومات السلالة K_{-12} من البكتيريا *E.coli* ومنفصلة عن بعضها بمسافات متساوية وتكون محمولة فى مجموعة إرتباطية واحـدة ، وأن الأفراد ذات التشكيلات الجينية المختلفة recombinants تحدث نتيجـة للتكاثر الجنسى الذى يتضمن امتزاج الخلايا الأبوية ذات العدد المفـرد من الكروموسومات haploid parents وقد تأيدت هذه الاستنتاجات فيما بعد باستعمال بعض العوامل الأخرى تعرف بالعوامل غير الإنتخابية unselected marker genes والتى لا يتم الانتخاب على أساسها ويمكنها أن تنتقل نتيجـة لإرتباطها مع العوامل الأخرى . ومن ضمن هذه العوامل غير الإنتخابيـة تلك التى تتحكم فى الصفات التخمرية وصفة المقاومة للفيروسات البكتيرية أو المضادات الحيوية وسميت هذه العوامل بالتسمية السابقة ، حيث أن الصفات التى تتحكم بها تظهر عادة فى الأفراد الجديدة الناتجة عن التزاوج وذات القدرة

التخليقية الكاملة Prototrophes والتى يمكنها النمو على بيئة الحد الأدنى . وحيث أن الصفات الإنتخابية selected marker genes مثل الاحتياج إلى الأحماض الأمينية أو الفيتامينات والتى ينتخب على أساسها تسمح بالتعرف السريع على أفراد الجيل الناتج من التزاوج ، فإن صفات التخمر والمقاومة للفيروسات البكتيرية والستربتومايسين والتى تختبر فيا بعد تسمح بتأكيد صحة التركيب الوراثى للفرد الجديد الناتج. ولإيضاح ذلك نعود مرة ثانية إلى السلالتين الأصليتين المستعملتين :

$B_1^- B^- M^- T^+ L^+$	$Lac^+ Mal^+ Mtl^+ Xyl^+ Gal^+ Ara^+ Vs\ Ss$	سلالة ٥٨ – ١٦١
$B_1^- B^+ M^+ T^- L^-$	$Lac^- Mal^- Mtl^- Xyl^- Gal^- Ara^- Vr\ Sr$	W-١١٧٧
Sel Marker genes.	Unselected Marker genes.	

وبالزراعة المختلطة لهاتين السلالتين على بيئة الحد الأدنى يحدث التزاوج بينهما ، ويمكن التعرف على كل التوليفات المحتمل حدوثها بين العوامل غير الإنتخابية وذلك بأختبار القدرة التخمرية للأفراد الناتجة ومعرفة درجة توزيع كل منها فى المجموع حيث يمكن ملاحظة إختلافات فى تعداد كل منها ، الأمر الذى يبين درجة التفاوت بين المجاميع الإرتباطية ، أو بمعنى آخر يبين إختلاف المسافات بين الجينات المختلفة والأمثلة التالية توضح ما تقدم .

$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$ $Lac^+ Mal^- Mtl^- Xyl^+ Gal^+ Ara^+$ $V_1 s$ S^s

$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$ $Lac^- Mal^+ Mtl^+ Xyl^- Gal^- Ara^+$ $V_1 r$ S^r

$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$ $Lac^- Mal^- Mtl^+ Xyl^+ Gal^- Ara^+$ $V_1 r$ S^s

$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$ $Lac^+ Mal^+ Mtl^- Xyl^- Gal^+ Ara^+$ $V_1 s$ S^r

وعلاوة على ذلك فأن هناك من البراهين الوراثية الأخرى ما يؤيدحدوث التزاوج الجنسى بالبكتيريا نسوق منها المثال التالى :

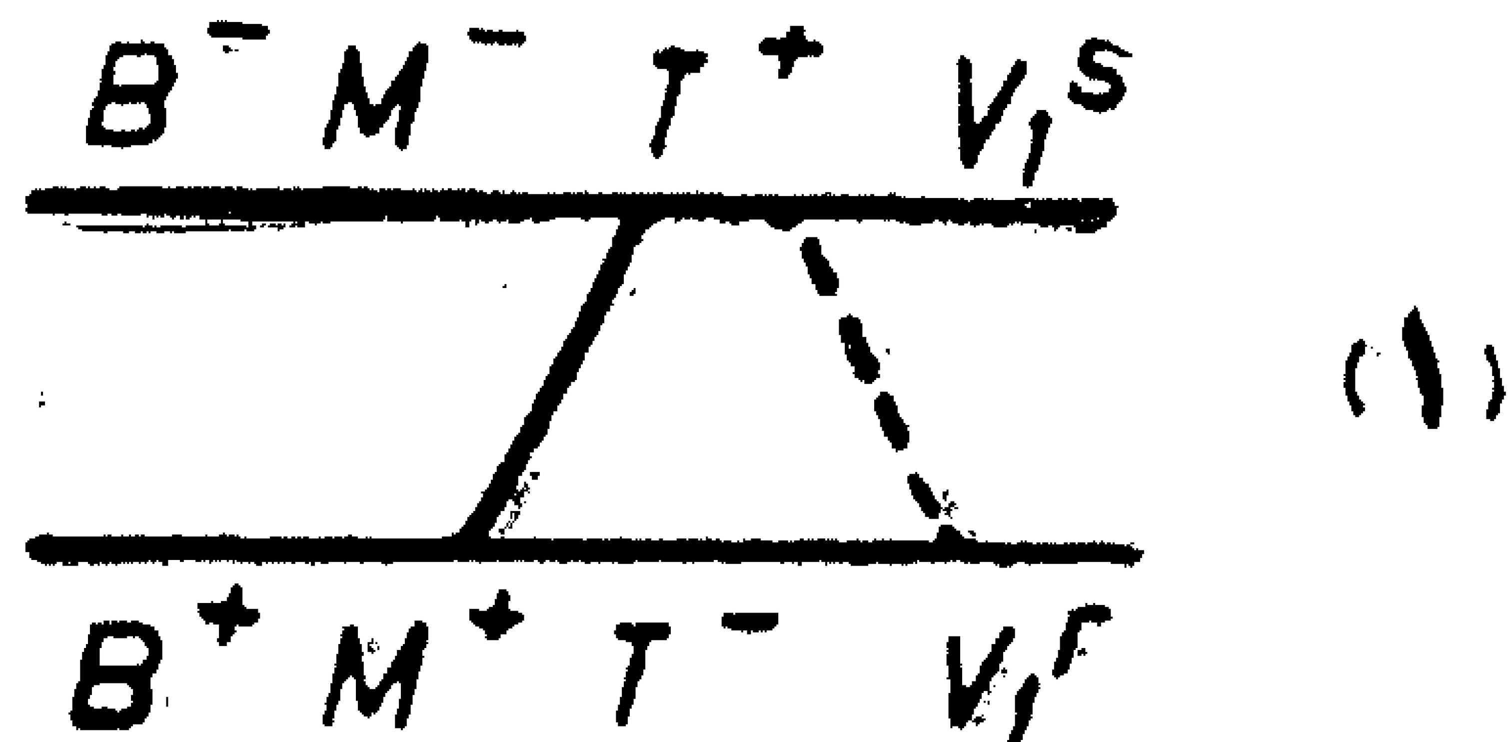
إذا افترضنا أن انعزال الصفات يحدث عن طريق الصدفة فان التهجينات العكسية reciprocal crosses يجب أن تسفر عن نتائج متطابقة فيما يختص بصفات الأفراد الناتجة عن التزاوج .

فمثلا إذا أجرى التهجينان التاليان :

$$\frac{B^- M^- T^+ \underline{V_1^s}}{} \times \frac{B^+ M^+ T^- \underline{V_1^r}}{} \quad (١)$$

$$\frac{B^- M^- T^+ \underline{V_1^r}}{} \times \frac{B^+ M^+ T^- \underline{V_1^s}}{} \quad (٢)$$

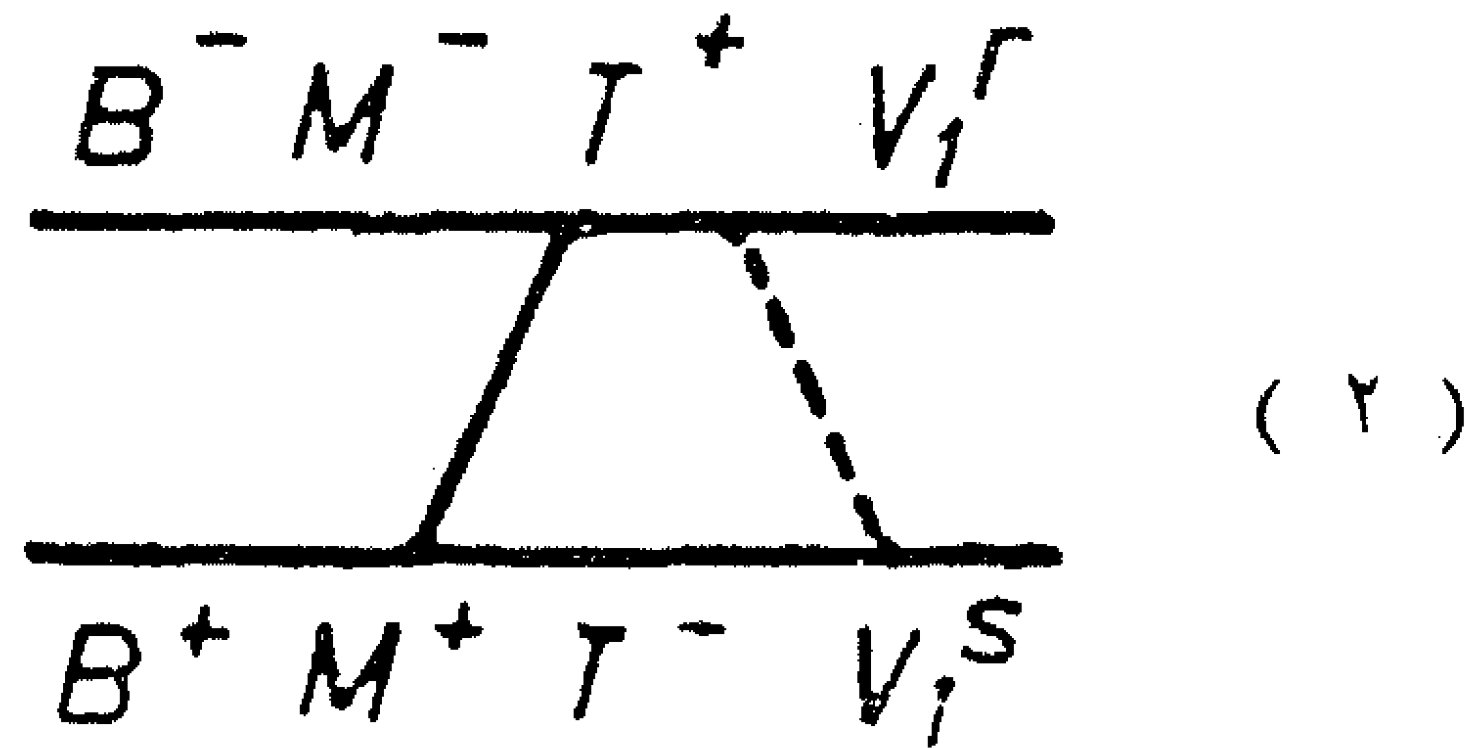
يجب أن ينتج عنهما أفراد متطابقة تماماً حيث توفر صفة المقاومة للفيرس البكتيرى فى أحد الآباء المستعملة بالتبادل ، وفى الحقيقة فان غالبية السلالات القادرة على النمو فى بيئة الحد الأدنى protrophs والتى تظهر عقب التهجين رقم (١) تكون حساسة للفيرس البكتيرى ، فى حين أن غالبية الأفراد التى تعزل من ناتج التهجين رقم (٢) تكون مقاومة للفيرس البكتيرى . وهذا يعنى أن حدوث عبور واحد يتم بين العوامل (M ، T)وأن ذلك يربط بين صفة الحساسية للفيرس البكتيرى مع الجينات الموجبة (+) .



فى حين أنه يلزم حدوث عبورين أحدهما فى المنطقة بين (M ، T) والآخر

فى المنطقة بين (V، T) لربط صفة المقاومة للفيرس البكتيرى مع الجينات الموجبة فى حالة التهجين رقم (١) .

وفى حالة التهجين رقم (٢) فانه يكون العكس صحيح بالنسبة للمقاومة للفيرس البكتيرى .



(٢)

فعند حدوث عبور واحد ترتبط العوامل الموجبة مع صفة المقاومةللفيرس البكتيرى فى حين يلزم عبورين لربط العوامل الموجبة مع صفة الحساسية للفيرس البكتيرى .

وكما سبق أن ذكرنا أن احتمال حدوث عبور واحد أكثر بكثير من احتمال حدوث عبورين .

وقد بين Lederberg (١٩٥٠) ، أن صفة المقاومة للمواد الكيماوية السامة يمكن استعمالها كعوامل إنتخابية selective markers فى تجارب التهجينات البكتيرية ، فعندما هجنت سلالة بكتيرية مقاومة للستربتومايسين (Sr) مع سلالة مقاومة للمركبات (الأزيد) Azides (az^r) من البكتريا *E. coli* K - 12 على بيئة تحتوى على كل من المادتين الكيماويتين أمكن عزل عدد قليل من مستعمرات سلالة مقاومة لكل منهما (Sr-az^r) يمكنها أن تنمو على مثل هذه البيئة فى حين أن السلالات الأصلية التى استعملت لا تقدر على النمو بها فيما عدا الطفرات التلقائية التى تحدث بين الخلايا المقاومة للأزيد (az^r) أو المقاومة للستربتومايسين (Sr) نحو مقاومة المادة الأخرى . وقد وجد

ليدربيرج أن معدل حدوث هذه الطفرات يتم فى خلية واحدة لكل ٧ × ١٠^٩ خلايا ، ٧ خلايا لكل ١ × ١٠^٩ من الخلايا المستعملة .

ووجود العوامل غير الإنتخابية unselected markers مثل عوامل التخمر فى خلايا الآباء المستعملة مكن من معرفة أن ٩٣٪ من السلالات ذات المقاومة المزدوجة لكلا المادتين الكيماويتين نتجت عن طريق التزاوج الجنسى وحدوث التهجين بين خلايا سلالتى الآباء . وقد أضاف ليدربيرج أن عزل الطفرات المقاومة للمواد الكيماوية يعتبر أسهل بكثير من عزل الطفرات الناقصة غذائياً ، وبالرغم من ذلك فان استعمال مثل هذه السلالات المقاومة لدراسة التهجينات البكتيرية لم تستعمل بعد فى هذا المجال .

ميكانيكية حدوث التكاثر الجنسى فى البكتيريا :

لقد أوضح ديفيز Davis فى سنة ١٩٥٠ بالدليل القاطع أن التكاثر الجنسى بين سلالات البكتيريا يلزمه حدوث تلامس حقيقى بين الخلايا المتزاوجة. وقد تم له ذلك بإستعمال أنبوبة على شكل حرف u يفصل بين زراعيها مرشح زجاجى sintered glass filter ملئت ببيئة سائلة ونميت بكل زراع سلالة من السلالتين المتزاوجتين وأثناء النمو دفعت البيئة خلال المرشح بواسطة ضغط الهواء ليساعد فى مرور الجزيئات ولكن لا تمرر الخلايا خلال ثقوب المرشح . وعقب السماح للنمو لفترة كافية لم يتمكن من عزل خلايابروتوتروفية (تراكيب وراثية جديدة) ، أى من الزراعين ولكن بإزالة المرشح مما يسمح بحدوث تلامس حقيقى بين الخلايا أمكنه عزل خلايا بروتوتروفية .

قد ظهر أيضا أنه يوجد طرز تزاوجيه mating types فى *E. coli* K - 12 فعند زرع سلالتين أحدهما تحتاج إلى الميثيونين (M^-) وأخرى تحتاج إلى ثريونين وليوسين وفيتامين ب١ ($T^- L^- B_1^-$) على بيئة آجار لعزل تراكيب وراثية جديدة تمكن هايز Hayes فى سنة ١٩٥٢ من إثبات أن الأبوين المتزاوجين لم يكونا متساويين تماما فقد وجد أن الأب (M^-) يحتفظ بخصوبته حتى بعد

معاملته بالإستربتوميسين . أما الأب الآخر فتتأثر خصوبته بالتعرض للأستربتوميسين . ولتوضيح هذه الملاحظة إفترض أن الأب (M^{--}) يعمل كمعطي المادة الوراثية genetic donor حتى ولو توقف عن النمو بواسطة المضاد الحيوى أما الأب الاخر ($T^{-} L^{-} B_1^{-}$) فيعمل كمستقبل للمادة الوراثية genetic recipient ولذلك يجب أن تكون السلالة الثانية حية لكى تستقبل المادة الوراثية .

ثم قام عديد من البحاث مثل هايز Hayes وليدربيرج Lederbergs وكافالى Cavalli بتجارب هامة وعديدة تتلخص أهم نتائجهم فى الآتى :—

ا — خلايا *E. coli* K -$_{12}$ توجد فى أحد حالتين جنسيتين هما F^+(مشتقة من كلمة Fertility خصوبة) و F^{--} . وتعتبر الخلايا F^+ معطية للمادة الوراثية أى ذكور أما الخلايا F^- فتعتبر مستقبلة للمادة الوراثية أى إناث .

ب — التلقيحات $F^- \times F^+$ تعتبر خصبة وتعطى تراكيب وراثية جديدة على معدل بين $١٠^{٥}$ إلى $١٠^{٦}$ والتلقيحات $F^- \times F^-$ تعتبر عقيمة ولاتعطى تراكيب وراثية جديدة والتلقيحات $F^- \times F^+$ فتعطى معدل منخفض جدا من التراكيب الوراثية الجديدة . حيث أن بعض خلايا F^+ تسلك فى المزارع من الناحية المظهرية مثل F^- . وهذا التأثير المظهرى يظهر بإستعمال مزرعة من F^+ فى مرحلة فى طور الثبات بعد التنمية فى ظروف تهوية عالية .

حـ — خلايا الـ F^+ تحمل عامل قابل للإنتقال (العامل F) وأن الخلايا F^- تستقبل العامل F وبذلك تتحول إلى الحالة F^+ . ويبدو أن العامل F يتكاثر ذاتيا وبسرعة أكبر من سرعة إنقسام الخلايا . وبذلك فان إدخال عدد قليل من الخلايا F^+ إلى مزرعة F^- يجعل صفة F^+ تنتقل إلى كل المجموع .

وفى سنة ١٩٥٠ إكتشف كافالى Cavalli نوعا آخر من الذكور أطلق عليه Hfrm ales (high frequency recombination) .

فقد حصل كافالى على مزرعة من السلالة (M^-) وعندما لقحت هذه

المزرعة مع سلالة ($T^-L^-B_1^-$) تكونت تراكيب وراثية جديدة على معدل يزيد آلاف المرات عما لو إستعملت السلالة الأصلية (M^-) ووجد أن السلالة Hfr تعتبر معطية للمادة الوراثية وأن خصوبتها لا تتأثر بواسطة الإستربتوميسين. وبعكس الـ F^+ فأنها لا تنقل عادة العامل F إلى الخلايا المستقبلة F^- . والتراكيب الوراثية الجديدة الناتجة عن التلقيح $Hfr \times F^-$ كانت بإستمرار F^- فيما عدا حالات نادرة . وإستنتج أن تحول الخلايا من F^+ إلى Hfr أدى إلى غياب العامل F كعامل قابل للإنتقال ولا يتكاثر ذاتياً .

وتمكن جاكوب Jacob وولمان Wollman فى ١٩٥٥ و ١٩٥٧ و ١٩٥٨ من توضيح العلاقة بين F^+ و Ffr وإقترحا أن نقل الجينات بواسطة مزارع F^+ تعزى فقط إلى وجود نسبة بسيطة من الـ Hfr والتى نتجت من خلايا F^+ ووجدا كذلك إنه يمكن عزل خلايا Hfr من مجموع F^+ عن طريق الطبع المتكرر Replica plating التى تستعمل لعزل الطفرات وأمكن إيضاح الحقائق الآتية :—

ا — الكروموسوم فى حالة السلالة F^+ دائرى مغلق وغير متصل بالعامل F والموجود خارج الكروموسوم .

ب — فى حالة خلايا Hfr فإن العامل F يكسر الحلقة فى نقطة معينة ليصبح الكروموسوم خيطى مفتوح .

حـ — أن هذا الكروموسوم الخيطى ينتقل بواسطة الخلية المعطية ، وأن العامل F يكون فى أحد الأطراف أما الطرف الآخر فيقود عملية نقل الكروموسوم Leading part .

د — المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية تشجع تحويل العامل F الموجود خارج الكروموسوم إلى الحالة الكروموسومية . وشكل ٩٦ يوضح العلاقة بين F^+ و Hfr ففى حالة الخلية F^+ فإن العامل F يكون خارج الكروموسوم

وأن الكروموسوم يكون فى صورة حلقة مقفلة وعند التحول إلى Hfr فإن العامل F يندمج مع الكروموسوم والذى يصبح تركيب مفتوح . ويلاحظ أن العامل F يكون متصل مع أحد النهايتين وأن الطرف الآخر يكون هو الجزء الذى يقود نقل الجينات leading part حيث أنه كلما بعد العامل الوراثى عن الجزء القائد كلما قل إحتمال ظهوره فى التراكيب الوراثية الجديدة. وحيث أن العامل F يمكن أن يدخل الكروموسوم عند أى نقطة فى الكروموسوم فإن السلوك الوراثى للـ Hfr يختلف فى التنوعات variants المختلفة لها فإذا فتح الكروموسوم بين A و B فإن نظام نقل الجينات يكون BCDEA(F) ، أما إذا دخل العامل F بين D و E فإن نظام نقل الجينات يكون DCBAE (F) (شكل ٩٦) .

وعلى ذلك فإن كل تنوع من الـ Hfr ينقل جين معين على معدل مرتفع وعلى ذلك فإن تنوعات أو سلالات Hfr تعرف بالجين الذى ينقل أولا . ولقد إستحق العالم جاكوب Jacob فى ١٩٦٥ جائزة نوبل لبحوثه فى هذا المجال فإنه مع زملائه الفرنسيين أظهروا تصوراً علمياً جديداً حيث أن نفس قطعة الـ DNA توجد خارج الكروموسوم فى السيتوبلازم أو تدخل الكروموسوم وهذه الوحدات الوراثية تسمى البلازميدات .

وتعتبر الخلايا F^+ هى خلايا بها قطع صغيرة من الـ DNA (العامل F) فى السيتوبلازم ولا تعتبر جزء من الكروموسوم أى DNA خارج الكروموسوم extrachromosomal DNA وتوجد فى صورة شريط مزدوج والشريط على هيئة جزىء DNA فى صورة حلقة مقفلة . وتمثل هذه القطعة الصغيرة تقريبا ١٪ من حجم الكروموسوم ويتكاثر مستقلا عن الكروموسوم وحيث أن هذا الـ DNA يحمل معلومات وراثية فإن خلايا الـ F^+ تخلق بروتينات لا تستطيع خلايا الـ F^- أن تخلقها وأهمها البروتين الخاص بالـ F-pili أو الـ Sex pili .

وعندما يوجد مجموع من خلايا F^+ وخلايا F^- فإن خلايا الـ F^+ تلتصق بخلايا F^- بواسطة الـ F-pili وخلال دقائق فإن واحدة من العامل F من

الخلايا الذكرية تدخل الخلايا المستقبلة. ومن المعروف حاليا أن نقل الكروموسوم الكامل من Hfr إلى خلايا F^- يحتاج إلى حوالى ٩٠ دقيقة . وأن معدل النقل يكون ثابت خلال التزاوج فبعد ٣٠ دقيقة من التزاوج ينقل $\frac{1}{4}$ — الكروموسوم وبعد ٤٥ دقيقة يتم نقل $\frac{1}{2}$ الكروموسوم وهكذا . وتمت هذه التجارب بإستعمال الفوسفور المعلم p^{32} الداخل فى تركيب الـ DNA الخاص بالخلايا Hfr . ونظراً لأن الـ pilus التى تمسك الخليتين معا ليست بالقوة الكافية فى معظم الأحيان ينكسر الكروموسوم قبل دخوله بالكامل إلى داخل الخلية المستقبلة ولذلك تظل معظم الخلايا المستقبلة F^- .

ووجد أيضا حبيبات خارج الكروموسوم وهى تشمل العامل F مع قطع من الكروموسوم وتسمى هذه الحبيبات خارج الكروموسوم F prime (F') . والسلالة التى تنقل هذه الحبيبات تسمى F′ strains .

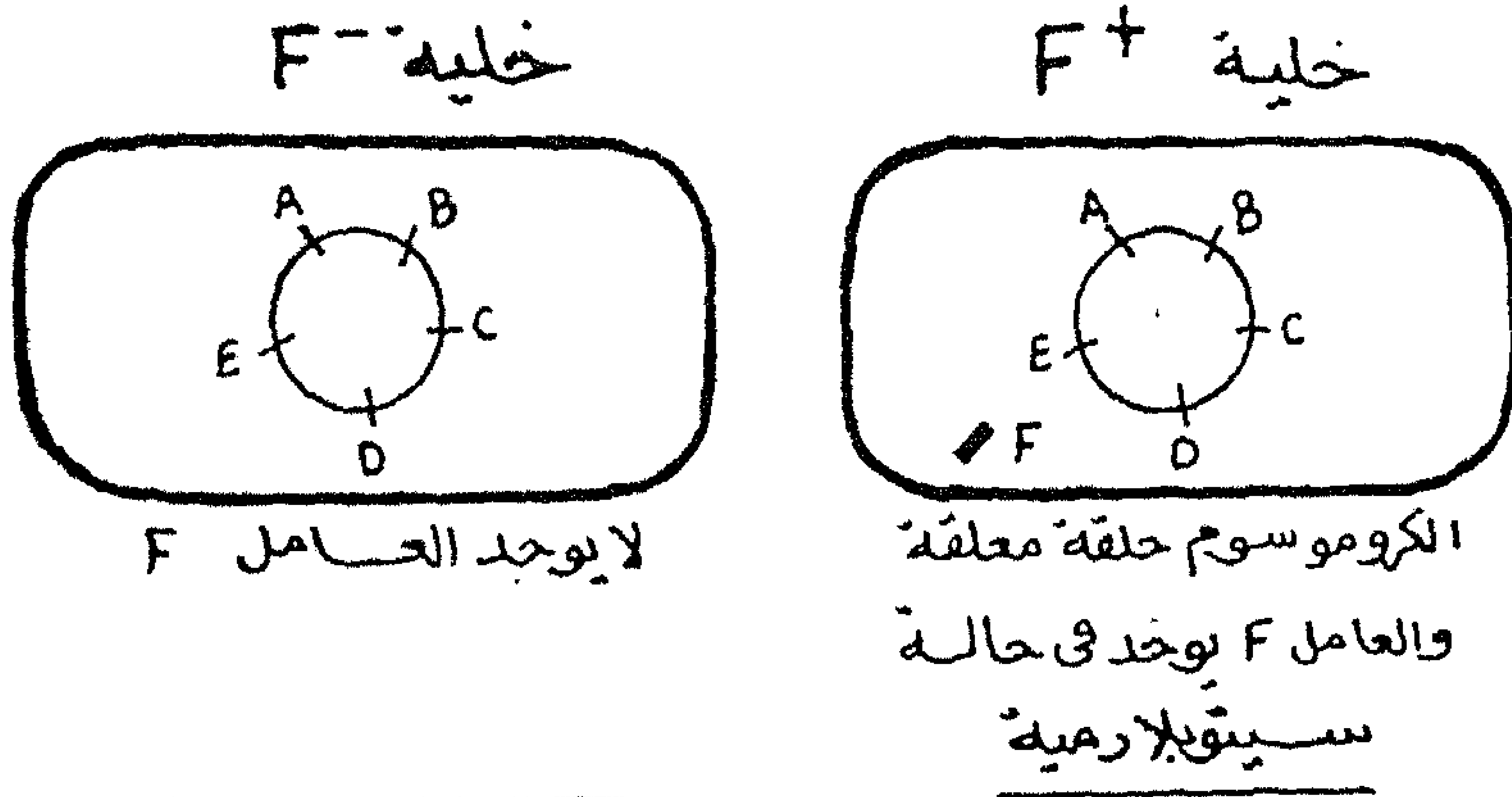
وهذه السلالات تنشأ بالطريقة الآتية :—

حيث أن العامل *F* يمكن أن يدخل فى تركيب الكروموسوم ففى أحوال نادرة يمكن أن ينفصل من الكروموسوم مرة أخرى ويبقى خارج الكروموسوم. وأثناء الإنفصال يحمل معه غالبا بعض من DNA الكروموسوم والتى تكون قريبة من العامل *F* . هذه الحبيبات لها خاصية العامل *F* فى أنها تنتقل بسرعة وكفاءة إلى الخلايا F^- وبذلك تنقل أيضا جينات كروموسومية إلى الخلايا F^-

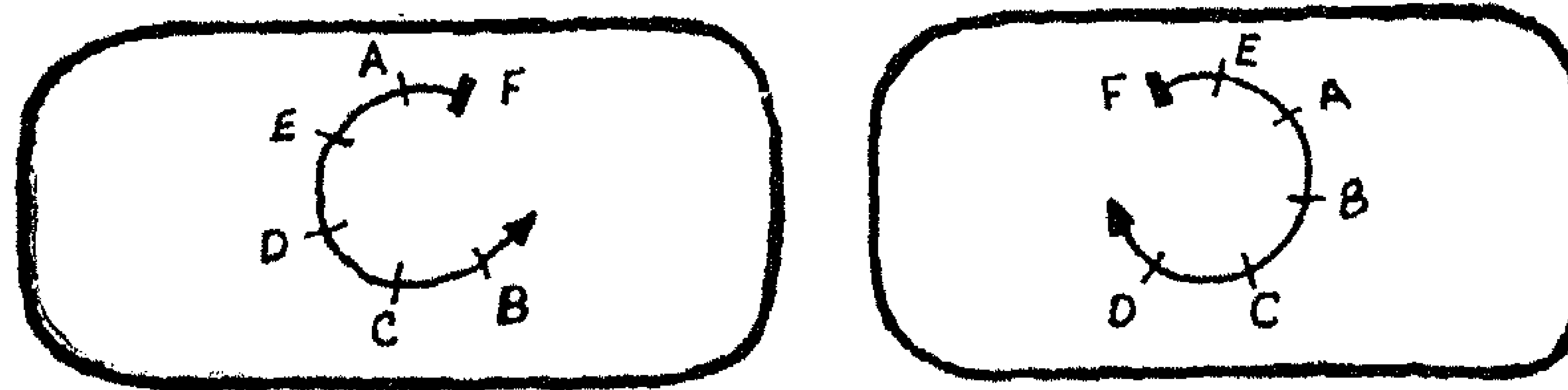
وحيث أن الخلية المستقبلة يكون بها الجينات الكروموسومية المحمولة على حبيبات F prime فإن الخلايا المستقبلة ستكون diploid لهذه الجينات القليلة العدد . وحبيبات الـ Fprime ستبقى خارج الكروموسوم فيما عدا حالات نادرة فإنها تدخل فى الكروموسوم . .

انتشار ظاهرة إعادة التشكيل الوراثى بالبكتيريات المختلفة :

معظم الدراسات الخاصة بالتهجينات البكتيرية تمت على البكتيريا *E. coli* K_{12} والتى تعتبر نموذجاً مثالياً لمجموعة بكتيريا القولون coliform group



سلالات Hfr



دخل العامل F بين E ، D وعلى ذلك يكون الجزء القيادى .... Leading part هو D ، وأن ترتيب نقل العوامل إلى الخلية المستقبلية هو: DCBAE (F factor)

دخل العامل F بين B ، A فيكون الجزء القيادى Leading part هو B ، وأن ترتيب نقل العوامل إلى الخلية المستقبلية هو: BCDEA (F factor)

شكل ٩٦ : رسم تخطيطى يوضح العلاقة بين سلالات الـ F^+ و F^- و Hfr .

والتى تم الحصول عليها من براز الانسان . والمحاولات الأخرى التى أجريت للبحث عن إمكان حدوث التهجينات بين السلالات الأخرى مثل السلالة (B) باءت جميعها بالفشل ، فيما عدا طفرة واحدة من السلالة (B) أمكن تهجينها مع أحد طفرات السلالة $K-_{12}$. وبالرغم من ندرة السلالات الخصبة جنسياً فقد أختبر ليدربيرج (١٩٥١) عددا كبيرا من سلالات البكتيريا *E. coli*

عزلت من براز الانسان وروث الدواجن لمحاولة تهجينها بالسلالة $K-_{12}$ باستعمال صفة المقاومة للستربتومايسين والقدرة الكاملة نسبياً على التخليق الحيوى prototrophy كعوامل انتخابية .

وأسفرت النتائج عن وجود ٨٪ من السلالات المعزولة من براز الانسان وسلالة واحدة من الأربعين سلالة المعزولة من روث الدواجن يمكنها التهجين مع السلالة $K-_{12}$. من ذلك يمكن القول أن هناك سلالات غير $K-_{12}$ يمكن تهجينها .

وقد قامت محاولات محدودة لتهجين البكتيريات الأخرى ، وقد أوضح McLory (١٩٥١) أن البكتيريات التى يحتمل حدوث تهجينات بها ، بالرغم من عدم وجود الأدلة المادية على ذلك ، السلالات ذاتية التغذية من البكتيريا *Achromobacter fischeri* ، كما قامت عدة محاولات لإكتشاف حدوث التهجين فى سلالات البكتيريا التابعة للأجناس *Salmonella* و *Pseudomonas* و *Serratia* و *Aerobacter* .

بعض المواضيع التى تختبر عن طريق دراسة إعادة التشكيل الوراثى للبكتيريات :

إن دراسة التشكيلات الوراثية البكتيرية تزود الدارس للوراثة بالبكتيريا بنفس الفوائد التى توفرها مثل هذه الدراسات لدارسى وراثة الكائنات الراقية . فهى أولا توضح التحكم الوراثى للصفات المعرضة للتغيير ، وأنها تثبت الطبيعة التطفرية للتصنيفات البكتيرية وحيث أن عملية العبور تتضمن تبادل أجزاء كروموسومية فان هذه الدراسات يمكن عن طريقها التميز بين الصفات التى تتحكم فيها عوامل نووية والأخرى التى تكون محكومة بعوامل سيتوبلازمية . وبالاضافة إلى ما تقدم فأن العلاقات الأرتباطية بين العوامل الوراثية والتى يمكن معرفتها بأختبار صفات الأفراد الناتجة عن التهجين تسمح بتحليل العلاقة بين العوامل الوراثية التى تتحكم فى مجموعة من الصفات المتقاربة . فمثلا قد تم دراسة العلاقة بين صفة المقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين وبين صفة

الإعتماد عليه للنمو ، في الطفرات الناتجة من البكتيريا $E.coli$ K-$_{12}$ وذلك بإجراء تهجينها معاً ، وكذلك مع السلالات الحساسة لتأثير هذا المضاد الحيوى .

وقد أسفرت الدراسات التى قام بها Newcombe (١٩٥٠) عن أن صفتى المقاومة أو الإعتماد على المضاد الحيوى تورثان وكأنهما محمولتان على مكان واحد من الكروموسوم ، وأنه لم يحدث عبور بين العوامل التى تتحكم فى هاتين الصفتين . ومثل هذه الظاهرة التى تتضمن التحكم فى مجموعة من الصفات المتقاربة والتى تختلف عن بعضها كمياً نتيجة للتغيرات المتعاقبة alternative changes والتى تحدث فى نفس المكان من الكروموسوم تعرف بالعوامل المتعددة « multiple alleles » فى الكائنات الراقية . وكثير من الطفرات المقاومة أو الحساسة للستربتومايسين والتى تمكن إشتقاقها من السلالات المعتمدة على هذا المضاد الحيوى يبدو أنها تتبع هذه المجموعة من العوامل المتعددة . وهناك موضوع آخر أمكن دراسته عن طريق إعادة التشكيل الوراثى للبكتيريا وهو إستعمال السلالات الزوجية الكروموسومات diploid strains والتى يحدث لها الإنعزال بعد فترة من حدوث التزاوج لدراسة العوامل الوراثية التطفرية بمثيلاتها الطبيعية ، فمثلا إجراء تهجين بين سلالة حساسة للستربتومايسين (+) وأخرى مقاومة للستربتومايسين (Sr) قد يؤدى إلى ظهور عدد من الأفراد الزوجية الكروموسومات غير المتشابهة diploid heterozygotes والتى تحمل كلا من العامل (+) والعامل (Sr) . وهذه الخلايا (+Sr) وجد أنها تكون حساسة لفعل المضاد الحيوى ستربتومايسين ، بمعنى أن صفة الحساسية لهذا المضاد الحيوى تكون سائدة على صفة المقاومة .

وحيث أن معظم البكتيريات تعتبر فردية الكروموسومات haploid ، فان سيادة العوامل الوراثية تكون قليلة الأهمية فى دراسة الوراثة البكتيرية على الأقل بالنسبة للمقاومة أو الحساسية للمضادات الحيوية . وكما سبق أن ذكرنا فان غالبية البكتيريا تكون عديدة الأنوية multinucleated على الأقل فى أثناء بعض أطوار نموها . فاذا حدثت طفرة لمقاومة مضاد حيوى معين فى نواة

واحدة مثل (Sr) فأنها تكون حينئذ غير قادرة على الظهور ، حيث أن العوامل (+) العديدة والموجودة بالنوايا الأخرى تظهر تأثيرها السائد . لذلك يلزم مرور وقت معين يعرف بفترة السكون phenotypic lag قبل مشاهدة أو لمس صفات الطفرة المتكونة ؛ ينقضي خلالها عدة أجيال تتضمن حدوث عدة إنقسامات يزيد فيها تعداد الأنوية المحتوية على (Sr) بدرجة تسمح بظهورها وقد سبق الاشارة إلى هذه الظاهرة بالفصل السابق من هذا الباب .

المراجع

Browining, C.H. 1908, J, Path. Bacteriol. 12 : 166.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1035p.

Hayes, W. 1952. Nature 169 : 118.

Lederberg, J., E.M. Lederberg, N.D. Zender and E.R. Lively. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16 : 413.

Lederberg, J. 1947. Genetics 25 : 505.

Lederberg, J. 1950. J. Bacteriol. 59 : 211.

Lederberg, J. 1949. Proc. Nat. Acad. Sci. 35 : 178.

Lederberg, J. 1951. J. Bacteriol. 16 : 549.

Lederberg, J. 1951. Science 14 : 68.

McLory, W.D. and Friedman, S. 1951. J. Bacteriol. 62 : 124.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769p.

Newcombe, H.B. and M.H. Nyhom. 1950. Genetics 35 : 603.

Tatum, E.L. and J. Lederberg. 1947. J. Bacteriol 53 : 673.

الفصل الرابع

ظاهرتى التحول الوراثى

Transduction — Transformation

ذكرنا فيما سبق أن الطفرات التلقائية وغيرها من التغييرات التى تحدث فى الصفات الوراثية تتميز بأنها غير موجهة كلية . وتكون دائماً مستقلة فى حدوثها عن العوامل البيئية التى تكون أقدر على إنتخابها .

ويأمل علماء الميكروبيولوجيا وكذلك علماء الوراثة فى التوصل إلى طرق من شأنها احداث طفرات صناعية معينة تتوفر فيها صفات معينة عند الرغبة فى ذلك ، وقد بدا هذا الحلم قريبا من التحقيق عندما وجد بعض العلماء أنه يمكن تغيير الصفات الوراثية لبعض الأنواع البكتيرية تحت تأثير DNA الذى يعزل من سلالات أخرى مختلفة فى صفاتها ولكنها تنتمى لنفس النوع البكتيرى. وحيث أن العوامل الوراثية بالكائنات الراقية وجد أنها تتكون من DNA اذن فظاهرة التحول الوراثى genetic transformation والتى أمكن اكتشافها فى البكتيريات قد يكون لها أهمية بيولوجية كبيرة ، حيث يمكن عن طريقها التعرف على القدرة التخصصية speci ficity وطريقة عمل المصممات الوراثية genetic determinants أى «الجينات» .

ظاهرة التحول المعروفة باسم Transformation :

سبق بيان أن ظاهرة التحول تسمح لبعض السلالات البكتيرية أن تنمو فى وجود الخلايا التى أميتت حراريا heat-Killed أو الراشحات المزرعية cultural filtrates أو المستخلصات الخلوية cell-free extracts من سلالة أخرى من نفس النوع البكتيرى . فتكتسب السلالة الأولى النامية تحت هذه الظروف بعض الصفات المعينة التى كانت تميز السلالة الثانية وتورثها إلى أجيالها المتعاقبة . والصفات الجديدة التى تكتسبها السلالة النامية هى عبارة عن تغييرات وراثية ثابتة تنتج عن اكتسابها لوحدات وراثية نشطة تصل إليها

عن طريق البيئة النامية عليها وليس عن طريق الالتحام الخلوى أو التزاوج الجنسي . كما أن هذه الوحدات الوراثية النشطة القدرة على احداث تغيرات وراثية ثابتة للخلايا التى تكتسبها .

ومثل هذه الوحدات الوراثية النشطة يمكن مشاهدة تأثيرها فى الأجيال المتعاقبة للخلايا المحولة والتى تنمو فيها بعد فى غياب، عامل التحويل transformation factor ويمكن الحصول على عامل التحويل بكميات تكفى لإحداث تحويلات فى سلالات أخرى عند استخلاص الخلايا المحولة أو ناتج انقسامها .

وقد تم التعرف على ظاهرة التحول هذه ، فى أنواع بكتيرية محـدودة وحيث أنه يتحتم توفر بعض الظروف البيئية المعينة لحدوث هذه الظاهرة فيمكن القول أن عدم القدرة على مشاهدتها فى الأنواع البكتيرية الأخـرى يرجع غالبا لعدم التعرف على الطرق والظروف المناسبة لحدوث هذه الظاهرة فى تلك الأنواع البكتيرية .

تحول الطرز الغلافية المختلفة من البكتيريا Pneumococci :

لاحظ Griffith (١٩٢٨) ظاهرة التحول لأول مرة فى بعض السـلالات التابعة للبكتيريا Pneumococci كما أن معظم الدراسات التى تمت عـلى هذه الظاهرة فيما بعد أجريت على سلالات هذا النوع .

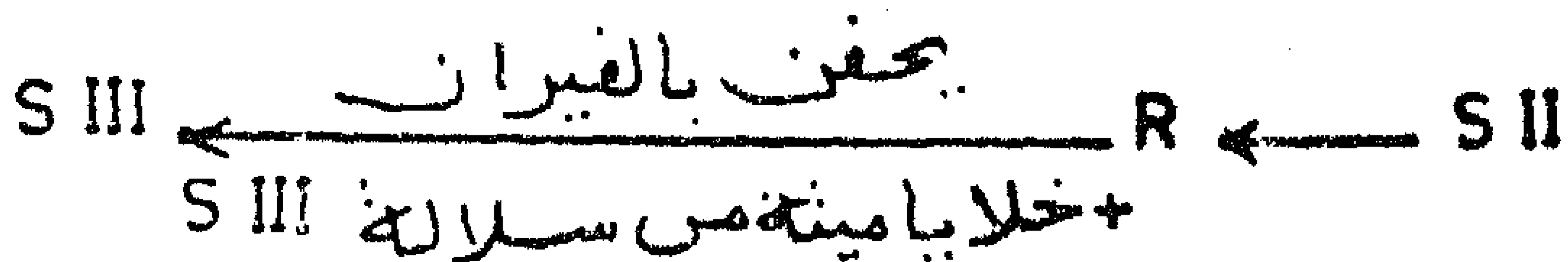
وكما سبق أن ذكرنا فى الباب الثانى من هذا الكتاب أن سلالات هذا النوع تتميز بوجود طرز ممرضة ناعمة Virulent smooth (S) types تمتلك غلافا يتركب غالبا من عديدات التسكر — . كما أن الصفات السيريولوجية والتركيب الانتيجينى antigenic structure للطرز المختلفة تتميز تبعـا لأختلاف التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف المحتوية عليها . وقد أمكن التعرف على ما يقرب من مائة سلالة سيريولوجية مختلفة من السلالات الناعمة لهـذه البكتيريا . ومن المعروف أن صفة التخصص السيريولوجى

serological specific type هذه صفة وراثية تحتفظ بها خلايا الطراز أثناء تكرار النمو والانقسام ويورثها إلى أجياله المتعاقبة :

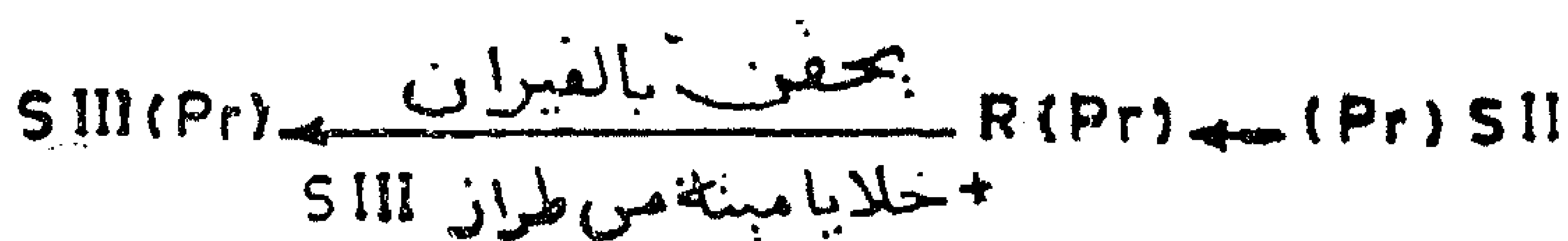
وجدير بالذكر أنه لم يمكن مشاهدة حدوث الطفرات التلقائية فى الطرز الناعمة من هذه البكتيريا إلى أى طراز غلافى آخر : ولكن يمكن للسلالات الناعمة أن تتطفر تلقائيا مكونة سلالات خشنة Rough (R) : ومن المعروف أن الطرز الخشنة عديمة الغلاف وتفتقر كما سبق أن بينا من قبل إلى التخصص السيريولوجى تجاه السلالات الناعمة التى تكون قد نشأت منها : والطرز الخشنة المتكونة هذه لا يمكنها الرجوع إلى أصلها نتيجة للارتداد فى الطفرات التلقائية بمعنى أنها لا تتطفر إلى طرز ناعمة ذات أغلفة :

وفى عام ١٩٢٨ تمكن Griffith وهو على علم تام بالحقائق السابقة من أن يحول خلايا سلالة خشنة غير مغلفة إلى سلالة ناعمة ومغلفة وذلك بتنمية السلالة غير المغلفة فى أنبوبة اختبار فى وجود خلايا أميتت حراريا haet-killed من سلالة ناعمة ذات غلاف .

وعلاوة على ذلك قام بحقن عدد قليل من الخلايا الحية من طراز خشن غير مغلف بجسم عدة فئران تجارب مع كمية كبيرة من خلايا (ميتة) من طراز ناعم يختلف سيريولوجيا عن السلالة الناعمة الأصلية التى اشتقت منها السلالة الخشنة المحقونة : فلاحظ موت عدد كبير من الفئران المحقونة بهذه الطريقة وأمكنه أن يعزل منها خلايا حية مغلفة ناعمة (S) من البكتيريا Pneumococci ذات قدرة ممرضة عالية لها نفس الصفات السيريولوجية لخلايا البكتيريات الناعمة (S) الميتة والتى حقنت فى أجسام هذه الفئران . وتبين المعادلة التالية ما يمكن أن يحدث :



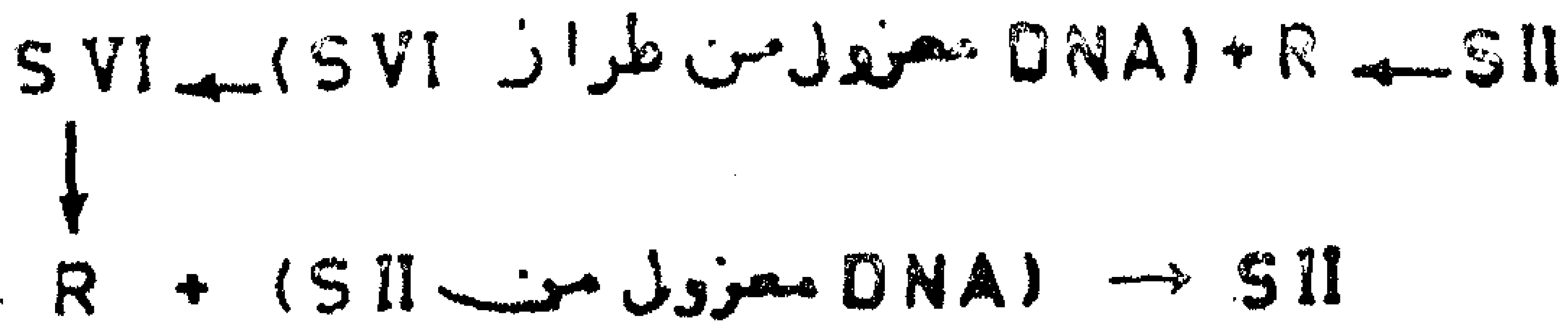
وقد حاول عدد من الباحثين اعادة تجربة جريفث حيث ثبت أن من المستحيل أن تكون السلالة SIII المعزولة من الفئران المريضة أو الميتة عبارة عن تلوث للقاح المحقون بخلايا حية من هذا الطراز . كما أن احتمال حدوث التلوث قد استبعد كثيرا عندما حقنت خلايا السلالة الخشنة (R) المعروفة بمقاومتها لبعض المواد الكيماوية السامة (مقاومة للبنسلين Pr) وهى صفة ليس لها علاقة بالغلاف وأمكن متابعة هذه الصفة فى السلالة الناعمة المعزولة كما يلى :



وقد تمكن داوسون وسيا Dawson & Sia (١٩٣١) من الحصول على تحويلات مشابهة بتنمية سلالة خشنة (R) فى بيون يحتوى على سيرم مضاد لنفس السلالة anti R - serum مضافا إليها بعض الخلايا الميتة من طراز ناعم (S) . وأعقب ذلك أن تمكن اللوواى Alloway (١٩٣٣) من الحصول على تحول مشابه عند تنمية خلايا السلالة الخشنة (R) فى بيئة مناسبة محتوية على مستخلصات من الخلايا الميتة الناعمة (S) . كل هذه المحاولات فتحت الطريق أمام ابحاث افيرى وزملائه (١٩٤٤) للتمكن من عزل المادة الفعالة فى عملية التحول (TP) transforming principle (TP) والتعرف عليها بأنها حمض ديزوكسى ريبونيوكليك (DNA) . وقد تبين أن المستخلصات غير النقية من الخلايا الناعمة من طراز SIII والتى أميتت حراريا تحتوى على كثير من المواد غير الفعالة فى احداث التحول مثل البروتينات ، والدهون ، و RNA ، وعديدات التسكر . وعندما أزيلت هذه المواد غير الفعالة بمعاملة المستخلص بالكلوروفورم أو بإجراء التحللات الانزيمية ثم معاملتها بالكحول بقيت بعض المواد وكان لها قوة المستخلص على احداث التحول . وقد تمكن McCarty & Avery (١٩٤٦) من التأكد من أن العامل النشط فى احداث التحول (TP) هو DNA وذلك بإجراء التحليلات الكيماوية واجراء منحنيات امتصاص الأشعة فوق

البنفسجية لحمض الديزوكسى ريبونيوكليكDNA النقى وبمقارنتها بالعامل النشط فى احداث التحول . وقد قام Hotchkiss (١٩٤٨) بتأييد هذه النتائج عندما وجد أن استعمال DNA النقى بنسبة ١/٦٠٠ مليون فى بيئة مناسبة يمكنه أن يحدث تحولا للخلايا الخشنة إلى خلايا ناعمة .

ولا تظل الخلايا المحولة محتفظة بصفتها الجديدة فقط بل أنه يمكن عزل DNA (TP) من الخلايا الناتجة عن نموها وانقسامها بكميات أكبر بكثير مما يكفى لإحداث تحولات فى سلالات غير مغلفة أخرى . وهذا يبين أن (TP) أو DNA الذى استعمل يمكنه أن يكرر نفسه reduplicates داخل الخلايا المحولة أو أنه يشجع تكوين DNA مشابه له داخل هذه الخلايا . وقد لوحظ تخصص DNA فى احداث التحول بمعنى أن DNA الذى يعزل من الطراز II تمكنه أن يحول الخلايا R إلىخلايا ناعمة من الطراز II وكذلك DNA المعزول من الطراز VI يحول الخلايا الخشنة إلى أخرى ناعمة من الطراز VI وهكذا كما يلى :



وبالرغم من أن هذه النتائج قد تظهر مدى تخصص الـ DNA ، فى التأثير على التركيب الوراثى الخاص بخلايا الطرز لتكوين عديدات تسكر معينة إلا أن كمية DNA التى تؤدى هذه الوظيفة تمثل نسبة بسيطة من الـ DNA الكلى للخلايا . هذا و DNA الممكن استخلاصه من الخلايا الخشنة غير المغلفة (R) من البكتريا pneumococci (بنفس الطرق التى يعزل بها فى الخلايا الناعمة) يكون غير فعال فى احداث التحول كلية . وقد أمكن توضيح درجة تعقد DNA المستخلص من الخلايا الناعمة من ناحية مدى احتوائها على عدد من العوامل التحويلية Transforming principles (TP's) ، عن طريق الحقيقة المعروفة عن أن التحول إلى صفات أخرى غير صفة التغليف مثل

المقاومة للمواد السامة وغيرها من الصفات يمكن الحصول عليها بأستعمال DNA معزول من سلالات pneumocoocci ذات أغلفة متشابهة من الناحية التخصصية كما سنوضح فيما بعد ، وغير معروف إلى الآن ما إذا كان إنعكاس التخصص البيولوجى للـ DNA يرجع إلى اختلافاته من الناحية الكيمائية ، إلا أن هناك بعض الأدلة تنص على أن DNA المعزول من مصادر مختلفة يحتوى على نسب مختلفة من الأسس البيورينية والبريميدينية :

التحولات المتضمنة طرزا غلافية متوسطة :

علاوة على التحولات المتضمنة للتحول فى تخصص الطرز الناعمة *S* أمكن لكل من Macleod (١٩٤٧) و Taylor (١٩٤٩) إظهار تفاعلات تحولية فى طفرات من البكتيريا pneumococci المتوسطة فى انتاجها لطبقة الغلاف ، وهذه الطفرات تختلف فقط عن الطرز الكاملة التغليف فى كمية المواد عديدة التسكر التى تفرز على سطح خلاياها ، فبينما يوجد طراز تطفرى وسطى intermediate type (SIII - 1) يفرز كمية قليلة جدا من مادة الغلاف المميزة لعديدات التسكر للطراز III نجد طرازا متوسطا آخر (S-III-2) يفرز كمية أكبر من مادة الغلاف على سطح خلاياها وكذلك نجد الطراز الأصلى (S-III-N) العادى كامل التغليف ، وقد وجد أن DNA الذى يمكن عزله من أى من الطرز الثلاثة المذكورة يمكنه أن يحول الخلايا الخشنة (R) إلى الحالة التى تميز الطراز الذى استعملت مادته التحويلية .







وعلاوة على ما تقدم فان خلايا R التى تتكون عن طريق الطفرات التلقائية من كل من الطراز العادى أو الطرز الوسطية intermediates يمكنها أن

تتحول إلى خلايا ناعمة من الطراز العادى إذا استعمل لذلك DNA مستخلصاً من خلايا عادية :



ومن النتائج السابقة يمكننا أن نستنتج ما يلى : (أ) الطفرات التى تؤثر فى كمية عديدات التسكر المتكونة تؤثر أيضا على عامل التحول (TP) الممكن استخلاصه من خلايا هذه الطفرات ؛ (ب) أن كل طراز يحتوى فقط على عامل تحول TP معين ، والذى يتغير أثناء عمليات التطفر الخاصة بكمية عديدات التسكر المفرزة : وقد أمكن تأييد الاستنتاج الأخير بتعريض خلايا خشنة R إلى خليط من DNA معزول من كل من SIII-N ، SIII- I وكانت الخلايا (S) الناتجة عبارة عن خليط من SIII-N ، SIII- 1 :

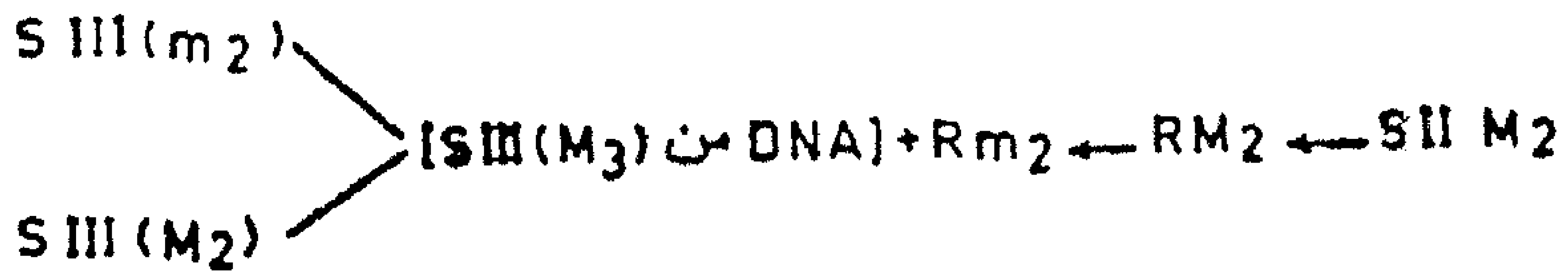
التحولات الوراثية المتضمنة صفات أخرى غير صفة التغليف :

علاوة على التحولات الوراثية التى تحدث فى صفة تخصص عديدات التسكر المكونة لأغلفة البكتيريا pneumococci أمكن اظهار هذه الظاهرة أيضا فى صفات أخرى لهذه البكتيريا ؛ فقد بين Austrain &McLeod(١٩٤٩) ؛ أن البروتينات الجسمية somatic protein (M-protein) والتى تحتويها الخلايا لا تتغير عند تحول الخلايا من صفة النعومة إلى الخشونة S ⟵ R :



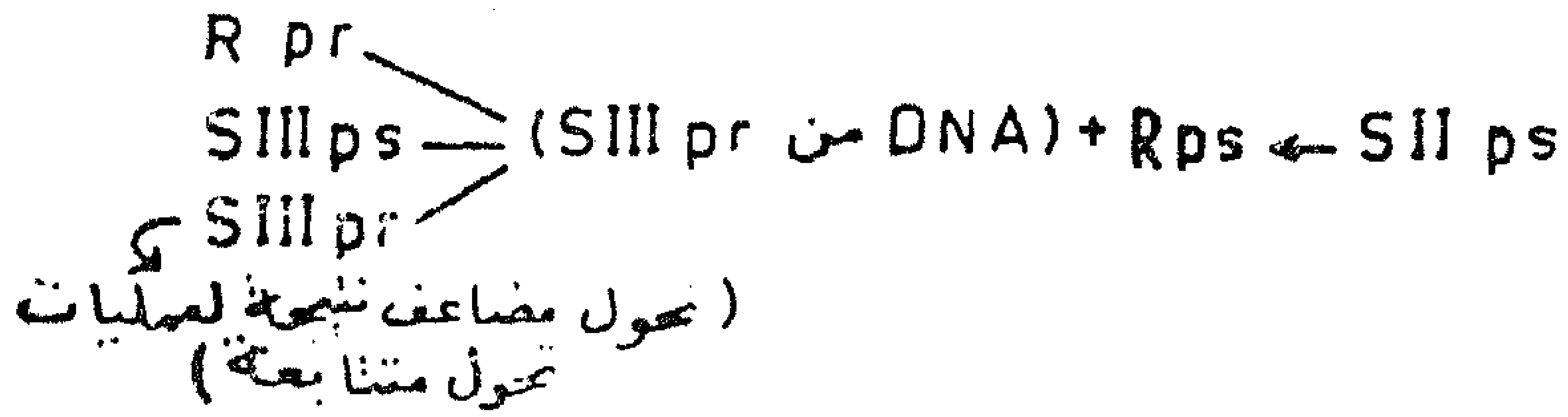
من ذلك نرى ان طرق انتاج عديدات التسكر وكذلك طرق تكـــون البروتين الجسمى (M) بهذه الخلايا تكون مستقلة ومختلفة عن بعضها.ويؤيد ذلك تواجد السلالات ذات النوع الواحد من مواد الغلاف والمختلفة البروتين الجسمى طبيعيا : ويمكن احداث تغيرات فى البروتين الجسمى (M-protein) لسلالة طفرية خشنة بتعريضها إلى سيرم مضاد للبروتين الجسمى (anti-M protein serum) والخلايا الجديدة المتحصل عليها تعرف بالرمز (Rm) .

وعند تعريض هذه الخلايا (Rm) إلى DNA من خلايا ناعمة مختلفة فى نوع بروتينها الجسمى أمكن عزل سلالتين من الخلايا الناعمة احداهما تحتوى على البروتين الجسمى للخلايا الخشنة (Rm) (parent) وذات غلاف مكون من عديدات تسكر السلالة المعطية . والسلالة الثانية كانت ذات بروتين جسمى (RM) وعديدات تسكر تشبه السلالة المعطية لعامل التحول والمثال التالى يوضح ما تقدم .



والسلالة SIII M_2 تمثل ناتج عملية تحويل مضاعفة double transformation حيث أنها تظهر تحولا لكل من البروتين الجسمى M ، وعديدات التسكر المكونة للغلاف . ولازال غير معروف أن هذه التحولات المضاعفة تحدث فى وقت واحد بداخل الخلية أو أنها ناتج لعمليات تحول متتابعة واحدة تلو الأخرى . وعموما فمثل هذه التحولات المضاعفة التى تتم عن طريق مستخلصات الخلايا الناعمة قد تبين أن DNA المتحصل عليه من كل خلية يحتوى على مجموعة من العوامل التحويلية المتخصصة .

وبالمثل أمكن الحصول على تحولات مضاعفة فى تحولات البكتيريا pneumococci والتى تتضمن نقل صفة المقاومة للبنسلين إلى خلايا حساسة له فى وجود DNA معزول من خلايا مقاومة . وعند تعريض خلايا خشنة (R) وحساسة للبنسلين (ps) إلى DNA معزول من الخلايا الناعمة (S) مقاومة له (pr) ، أمكن عزل سلالات خشنة (R) مقاومة لتأثير البنسلين علاوة على خلايا ناعمة (S) حساسة للبنسلين وذات غلاف يحتوى على عديدات تسكر مشابهة لتلك الموجودة فى أغلفة الخلايا المعطية لعامل التحول أى التى استخلص منها DNA المستعمل . كما أمكن أيضا عزل عدد قليل من خلايا ناعمة ومقاومة للبنسلين وذات غلاف مشابه للطراز المعطى لعامل التحول donor :



والحصول على خلايا مقاومة للبنسلين فى هذا التفاعل كان أكبر بما يقرب من ١٠,٠٠٠ مرة ، من الممكن التحصل عليها عن طريق التطفر التلقائى أى فى غياب DNA المعزول من الخلايا المقاومة . ومن الصفات الهامة التى تميز هذا النوع من التحول الوراثى انعكاس الحقيقة المعروفة عند حدوث الزيادة المتدرجة فى مقاومة الخلايا للبنسلين . لذلك فان DNA الذى يعزل من الخلايا المقاومة (pr) للبنسلين على تركيز يصل إلى ما يقرب من ٣٠ مرة قدر ذلك المؤثر على الخلايا الحساسة له ، يسفر عن خلايا محولة تقاوم تركيزا من البنسلين يوازى فقط خمسة أضعاف ذلك التركيز المؤثر على الخلايا الحساسة . وتعريض الخلايا الأخيرة إلى نفس DNA مرة ثانية ينتج عنه خلايا أكثر مقاومة بما يقرب ١٢ مرة عنها فى الخلايا الحساسة وهكذا . من ذلك يمكننا أن نرى مرة ثانية التلازم بين تأثيرات عوامل التحول (TP's) وبين التأثيرات المعروفة لمجموعة الجينات .

ميكانيكية التحول : mechanism of transformation

قد أمكن الحصول على عمليات تحول وراثية لبعض صفات البكتيريات *E. coli* ، *Haemophilus influenzae* ، *Shigella paradysenteriae* كما أن هناك ثلاثة أنواع أخرى أمكن ملاحظة حدوث هذه الظاهرة بها بطرق أقل تعقيدا .

درست طبيعة التحول الوراثى فى البكتيريا ووجد أن الطريقة تشتمل على خروج الـ DNA من الخلية المعطية أو الواهبة عن طريق تحلل الخلية مثلا وخلال ذلك يحدث تكسير لجزىء الـ DNA الدائرى إلى حوالى ١٠٠ — ٢٠٠ قطعة وكل قطعة تتكون من عدد من الجينات (حوالى ١٠ — ٢٠ جين) . ومن

الملامح المثيرة للدهشة فى عملية التحول هذه هو كيفية مرور جزء كبير من الـ DNAخلال الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى للخلية المستقبلة : ويبدو أن هناك أماكن إستقبال معينة على سطح الخلية والتى تميز وتستقبل أجزاء من الـ DNAفى صورة أجزاء من شريط مزدوج : ويلاحظ أن الشرائط الفردية من DNA تستطيع الدخول إلى الخلية المستقبلة ولكن ليس بالسهولة التى تدخل بها الشرائط المزدوجة :

وظهر أن الخلايا المستقبلة تستقبل الـ NAD عندفترة معينة من دورة إنقسام الخلية وتسمى فترة الإستقبال receptive period (أو تسمى period of competence) وهى فى حالة البكتريا *S. pneumoniae* تكون مباشرة قبـــل الإنقسام الخلوى ، وفى حالة الجنس *Bacillus* تكون معظم الخلايا قادرة على الإستقبال فى الفترة الأخيرة من الطور اللوغاريتمى :

وحديثا وجد عامل Competence factor عزل من *S.pneumoniae* من البروتين ويجعل الخلايا قادرة على الإستقبـــال ويفترض إنه يغير من تركيب السطح الخلوى طريقة ما. وإقترح أيضا أن هناك إنزيمات بريبلازمية periplasmic enzymes التى تدخل فى نمو الجدار الخلوى وفى إنقسام الخلية قد تلعب دوراً فى جعل الخلية المستقبلة قادرة على الإستقبال : ويلاحظ أن القدرة على الإستقبال تتأثر بنوع البيئة ووجود مواد كيماوية معينة :

بعد دخول أجزاء الشرائط المزدوجة من الـ DNA الخلية المستقبلة فإنه مباشرة توجد فترة كسوف eclips period لا يمكن خلالها الحصول على الـ DNA الداخل إلى الخلية وهذه الفترة تستغرق حوالى ٥ دقائق ، وأجريت دراسات بإستعمال DNA معلم ظهر فى خلال هذا الوقت فإن الـDNA تكون فى حالة شرائط فردية . ثم يتبع ذلك إدخال الـ DNAإلى الهيئة الكروموسومية للخلية المستقبلة وبعد ذلك يمكن أن تعود حالة الشريط المزدوج إلى الـ DNA :

ويفترض أن يحدث إستئصال لجزء من الـ DNA للخلية المستقبلة ، ودخول

جزء مماثل من شريط مفرد من الـDNA الخاص بالخلية الواهبة فى منطقة مماثلة على الهيئة الكروموسومية للخلية المستقبلة :

وعلى ذلك فإن التحول الوراثى فى البكتيريا يشتمل على إعادة تشكيل وراثى recombination والذى يحل فيه جزء من الهيئة الوراثية للخلية الواهبة لجزء مماثل من الـDNA للخلية المستقبلة وليس عن طريق إضافة الـDNA إلى الهيئـة الوراثية للخلية المستقبلة حيث أنه لم تشاهد حالة ثنائيـة الأساس الكروموسومى diploidy فى الخلايا المتحولة :

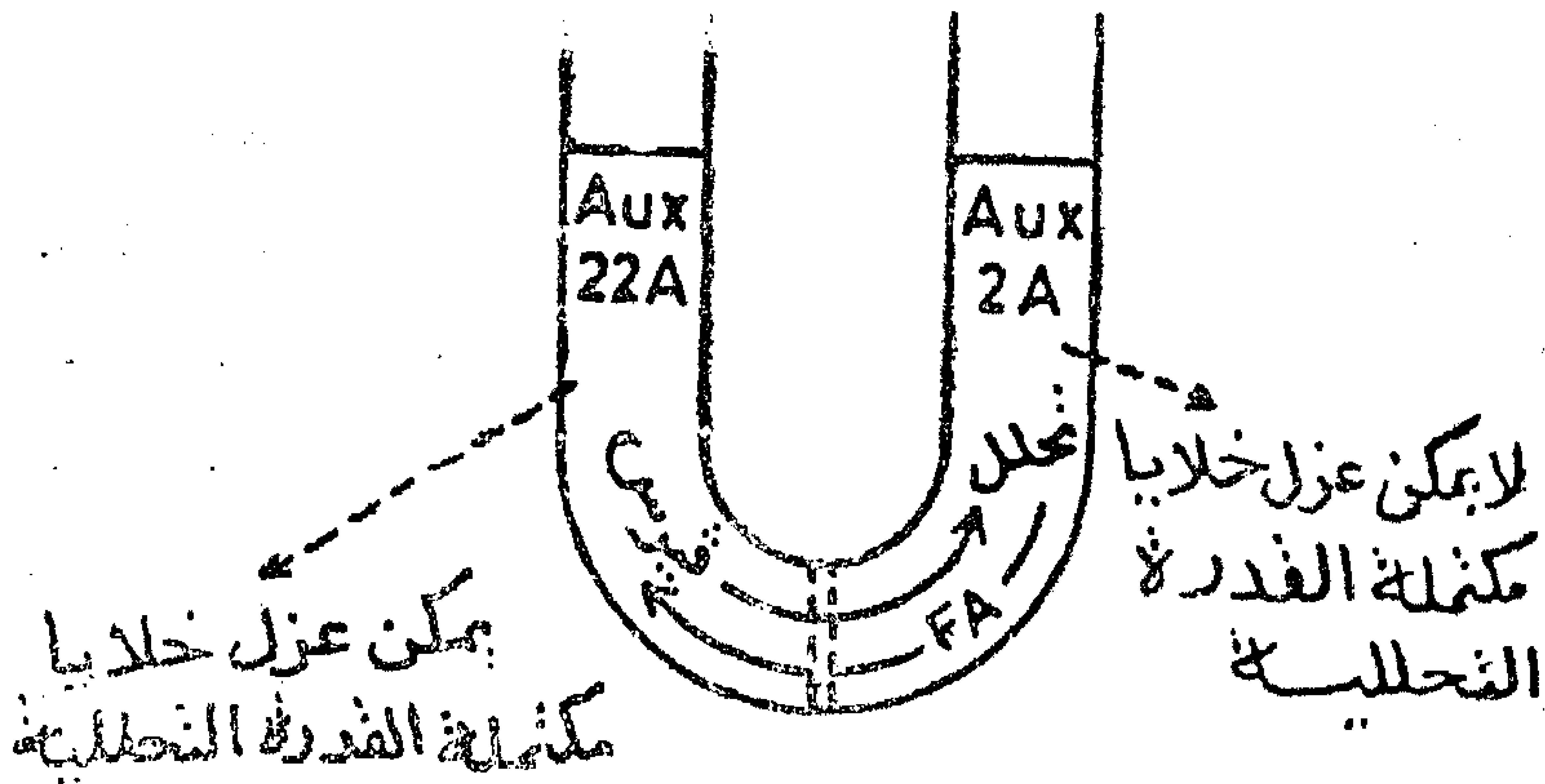
ويلاحظ أن التحول الوراثى يمدنا بوسيلة مفيدة لدراسة تأثير عدد من المعاملات الفيزيائية والكيماوية على الوظائف الحيوية للـ DNA : فيمكن عزل وتنقية DNA من خلايا مستقبلة ثم بعد ذلك تحديد ما إذا كانت المعاملة بمادة كيماوية معينة يكون لها تأثير على قابلية الـDNA لتغيير الخلية المستقبلة : وقد إستعمل Lederberg هذه الطريقة لإظهار أن مركبات الكلور التى تستعمل فى حمامات السباحة تستطيع إتلاف الـDNA . كما أن عوامل التطفر مثل حمض النيتروز Nitrous acid تحطم بسرعة قابلية الـDNA لإحداث تحول وراثى :

ظاهرة التحول المعروفة باسم : Transduction

هى ظاهرة تشابه كثيرا ظاهرة التحول Tranasformation سابقة الذكر أمكن مشاهدتها فى الدراسات التى تمت على أنواع جنس *Salmonella* ، وهذه الظاهرة تتضمن انتقال المصممات الوراثية hereditary determinants من سلالة إلى أخرى عن طريق عامل قابل للترشيح filterable agent والذى يكون ملازما لجزيئات مرئية ذات حجم يقدر بما يقرب من ٠٫١ ميكرون : وقد أكتشف Zinder (١٩٥٢) هذه الظاهرة عندما صمم تجربة لإختبار حدوث التهجين أو التكاثر الجنسى بين سلالات البكتيريا *Salmonella typhimurium* ، فقد قام بإجراء تهجينات مختلفة بين عشرين سلالة طفرية غير مكتملة القـدرة التخليقية auxotrophes محاولا عزل سلالات prototrophes من ناتج هذه

التهجينات . وفى تسع تهجينات فقط أمكنه عزل سلالات مكتملة القدرة التخليقية prototrophes بأعداد كبيرة ، بمعدل يزيد عن المعروف حدوثه عن طريق التهجين .

وعندما زرع السلالات المتزاوجة منفصلة عن بعضها كلا فى ذراع أنبوبة ذات شكل حرف U (شكل ٩٧) ، فصل ذراعيها عن بعضها بواسطة حاجز زجاجى ذى ثقوب غاية فى الدقة ultra-fine fritted glass filter .



شكل ٩٧ : شكل تخطيطى يبين حدوث ظاهرة transduction فى البكتيريا *Salmonella typhimurium* بين سلالتى ٢٢أ ، ٢أ ، باستعمال أنبوبة ذات شكل حرف (U).

فقد زرع فى أحد ذراعى الأنبوبة سلالة (2A) تحتاج إلى اضافة الهستدين وفى الذراع الآخر زرع سلالة (22A) تحتاج إلى اضافة التربتوفان . وعندما أضاف لقاحا من كل من السلالتين مقداره ١٠^٨ خلية فى كل ذراع أمكن عزل ١٠ خلايا prototrophes لكل مليون خلية وذلك من الذراع الذى يتواجد به السلالة (22A) ولم يمكن عزل مثل هذه الخلايا من الذراع الآخر المحتوى على السلالة (2A) .

وقد وجد أن السلالة (22A) تحمل فيرس بكتيرى bacteriophage له قدرة تحليلية ضعيفة للسلالة (2A) . وتحت تأثير هذا الفيرس البكتيرى الذى

يمكن لجزيئاته المرور خلال المرشح الزجاجي ذى الثقوب الدقيقة جدا فان عاملا قابلا للترشيح Filterable agent (FA) يمكنه أن ينطلق من الخلايا (2A) التى تحللت من تأثير اصابتها بالفيرس البكتيرى . بمعنى أن (FA) المنطلق من خلايا السلالة (2A) يمكنه أن يمر عكسيا خلال الحاجز الزجاجى ليصل إلى خلايا السلالة (22A) ويكسبها صفات جديدة تشبه خلايا السلالة التى أطلقته وفى الحالة المبينة فى (شكل٩٧) فأن الصفة التى تنتقل هى القدرة على النمو فى غياب التربتوفان وقد أمكن ملاحظة انتقال بعض الصفات الأخرى بهذه الطريقة مثل القدرة على تخمير الكربوايدرات ، أو مقاومة المضادات الحيوية ، أو الصفات السيريولوجية ٥

ومن الصفات المميزة لهذه الظاهرة الحقيقة المعروفة أن الخلايا الفردية تكتسب نتيجة لها صفة وراثية واحدة فقط من السلالة المعطية لعامل التحول القابل للترشيح (FA) ، بمعنى أنه لو اختلفت السلالة المعطية للعامل القابل للترشيح عن السلالة الأخرى فى صفتين وراثيتين ولتكن A ، B ، فان خلايا مكتسبة لصفة A أوصفة B يمكن عزلها علاوة على الخلايا الأخرى غير المحولة ولكن لا يمكن عزل خلايا متحولة فى كلا الصفتين A ، B ، فى نفس الوقت. والانتقال الفردى للصفات الوراثية من خلايا سلالة إلى خلايا السلالة الأخرى هو من الاختلافات الأساسية المميزة لهذه الظاهرة عن ظاهرة اعادة التشكيل الوراثى والعبور التى تحدث فى البكتيريا *E. coli* كما أن سبق بينا ، حيث أن فى ظاهرة العبور يحدث ارتباط بين صفات وراثية عديدة تنتقل جميعا إلى خلايا السلالات الناتجة من عمليات التهجين .

وقد سبق ذكر أن العامل القابل للترشيح (FA) والذى ينطلق من خلايا بعض سلالات *Salmonella* تحت تأثير اصابتها بالفيرس البكتيرى يكون ملازما لجزيئات ذات حجم يصل إلى ٠,١ ميكرون تقريبا والتى يمكن مشاهدتها بالمجهر الالكترونى .

وقد وجد أن (FA) يكون مقاوما للظروف التى يعتقد أنها تبيد الخلايا البكتيرية الحية بمعنى أنه يكون مقاوما لعمليات التسخين لدرجة ٥٦°م لفترة ٣٠ دقيقة كما أنه يكون مقاوما لعمليات الترسيب الكحولى أو الرج مع الكلوروفورم أو البنزين. كما أنه يختلف عن عامل التحول Transforming principle (TP) الذى تفرزه خلايا pneumococci أو أنواع *Hemophillus* فى أن (FA) يكون مقاوما لفعل انزيم desoxyribonuclease ، وهذا لا يعنى أن (FA) يكون خاليا من DNA ، حيث يمكن القول أن DNA المحتوى عليه لا يكون عاريا كما هو فى حالة (TP) بل يكون محميا بمواد أخرى تحيط به من جميع الجهات :

وقد أمكن الحصول على العامل القابل للترشيح (FA) من الخلايا المعطية له بطرق أخرى غير تعريضها إلى تأثير الفيرس البكتيرى مثل تعريض الخلايا إلى كلوريد الليثيوم : أو الكريستال البنفسجى أو إلى تركيزات منخفضة من البنسلين أو بمجرد ترك الخلايا لفترة طويلة فى بيئاتها السائلة ؟ (aging in broth) إلا أنه لم يمكن الحصول على هذا العامل (FA) من الخلايا المعطية له مثل السلالة $_2$A ، بقتلها حراريا أو بتحليلها ذاتيا أو بتهيئة الظروف التى يكون (FA) مقاوما لها : كما أن الراشح المحضر مباشرة من مزارع مثل هذه السلالات بدون تعريضها إلى السلالة الأخرى المستقبلة مثل ($_{22}$A) فى المثال الموضح (بشكل ٩٧) لا يسفر عنه (FA) نشط فى عملية التحويل الوراثى :

وظاهرة Transduction درست فقط فى سلالات *Salmonella* المنتمية للأنواع ذات التركيب السيريولوجى الجسمى (Somatic O antigens) المتشابهة وبخاصة الطرز السيريولوجية ذات التركيب الانتجينى الجسمى (XII): من ذلك نرى أن هذه الظاهرة تحدث فقط بين سلالات البكتيريا *Salmonella typhimurium* وكذلك البكتيريا *S. typhosa* المتشابهة فى التركيب الانتجينى الجسمى والمختلفة فى التركيب الانتجينى السوطى (H antigen) : وهذا قد ينتج عنه ما يمكن

اعتباره أول تهجين بين الأنواع interspesific hybridization حيث أن الخلايا الناتجة يكون لها التركيب السيربولوجى الجسمى للنوع *S. typhosa* ، والتركيب السيربولوجى السوطى للبكتيريا *S. typhimurium* : وأن مثل هذا الطراز لم يشاهد حدوثه بالطبيعة إلى الآن .

والجزيئات القابلة للترشيح والتى تتلازم مع (FA) كان يعتقد تشابهها بالتركيبات البكتيرية المعروفة باسم L. forms إلا أن الدراسات الحديثة والتى قام بها Zinder (١٩٥٢) قد بينت أن هذه الجزيئات عبارة عن جزيئات فيرس بكتيرى ؛ وأن جزيئات الفيرس البكتيرى هذه تعتبر بمثابة حوامل carrier للمواد التحويلية transducive material . وحيث أن جزىء الفيرس البكتيرى يمكنه أن ينقل عادة صفة وراثية واحدة للخلية التى يصيبها فقد أقترح أن الجزىء الفردى من جزيئات الفيروسات البكتيرية يعمل كحامل لجين واحد أو أكثر أو لجزء بسيط من كروموسوم الخلايا المعطية لعامل التحول ويقال أن الكروموسوم البكتيرى يتجزأ إلى ما يقرب من ١٠٠ جزء أحد هذه الأجزاء يدخل بطريق الصدفة إلى أحد رؤوس جزيئات الفيرس البكتيرى . وعندما يتحرر الفيروس من الخلية المصابة فقد يصيب خلية أخرى مستقبلة وبذلك تنقل الجينات البكتيرية من سلالة إلى أخرى ويحدث إندماج للـDNA الجديد مع DNA الخلية المستقبلة : كما يجب أن نعلم أيضا أن التركيب الوراثى للخلية القابلة للتحويل transiducible قد يكون له دورا فى التحكم فى أى من العوامل الوراثية التى يمكن إدماجها فى تركيبها الوراثى .

أهمية ظاهرتى التحول الوراثى فى الدرسات البكتيريولوجية المختلفة :

لقد كان ولايزال لظاهرتى التحول سواء transformation أو transduction لها دور هام فى تطور البكتيريات عموما تماما كالدور الذى تلعبه ظاهرة اعادة التشكيل الوراثى recombination فى هذا الصدد حيث أنه من المعروف كونها من المصادر الهامة فى نشوء أفراد ذوى توليفات وراثية

جديدة . ولهاتين الظاهرتين أهمية قصوى فى البكتريولوجيا الطبية وبخاصة فى دراسة الأمراض الوبائية من حيث نشوء وتأقلم الأوبئــة البكترية . فعن طريق احدى هاتين الظاهرتين أوكليهما قد تتكون سلالات جديدة ذات صفات سيريولوجية وممرضة مميزة إذا ما احتوى جسم المريض على سلالتين مختلفتين فى هذه الصفات وتوفرت فى جسمه كل الظروف المشجعة لحدوث أى منهما .

هذا ولم يمكن إلى الآن مشاهدة أى تحول وراثى مشابه بين خلايا الكائنات الأرقى من البكتريا دون ضرورة تلامسها الفعلى ، إذا مااستثنينا حالات تكون الأورام الخبيثة التى تنشأ عن اصابات فيروسية . من ذلك نــرى أن التفاعلات التحولية هذه لا تعتبر ذات أهمية كبيرة من ناحية دراسة الوراثة بالبكتريا فقط بل أنها ذات أهمية بيولوجية تطبيقية عامة فى شتى الميادين البكتريولوجية .

المراجع

Alloway, J.L. 1932. J. Exp. Med. 55 : 91.

Alloway, J.L. 1933. J. Exp. Med. 57 : 256.

Austrian, R., and C.M. MacLeod. 1949. J. Exp. Med. 89 : 451.

Boivin, A. 1947. Cold Spring Harbor, Symp. Quant. Biol., 12 : 7.

Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035p.

Dawson, M.H. and R.H.P.S. 1931. J. Exp. Med. 54 : 681.

Ephrussi-Taylor, H. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol 16 : 445.

Ephrussi-Taylor, H. 1951. Exp. Cell Research, 2 : 589.

Griffith, F.J. 1928. J. Hyg. 27 : 113.

Hotchkiss, R.D. 1948. Colleques sur « Les unités biologiques donéss de continuité genelique » Centre Nat. Rech. Sci., Paris, 8 : 57.

Hotchkiss, R.D.1951.Cold Spring HarborSymp,Quant.Biol.,16: 457·
MacLeod,C.M.,and M.R., Kraus. 1947.J. Exp. Med. 86:439.

McCarty, M., and O.T. Avery. 1946. J. Exp. Med. 83 : 89; 83 : 97.

McCarty, M.H., E. Taylor and O.T. Avery. 1946. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 11 : 177.

Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston N.Y.

الباب الخامس

التفاعلات الأيضية البكتيرية

Bacterial Metabolism

إن الخلية البكتيرية الصغيرة الحجم والتي يصعب رؤيتها حتى بعد تكبيرها آلاف المرات لعلى درجة كبيرة من النشاط. فهي تنمو وتتكاثر محدثة تغييرات كيماوية ملموسة فى البيئات التى تعيش فيها . كما أنها تورث هذا النشاط إلى أجيالها المتعاقبة . وفى الحقيقة تعتبر القدرة على إحداث تغييرات كيماويــــة سريعة فى بيئة النمو من أهم الصفات التى تفرق بين الكائنات الحية والأخرى غير الحية . فالبكتيريا تعيش ملامسة لعديد من المواد التى تتواجد ببيئاتها لاتهتم ببعضها فى حين أنها ترحب بالبعض الآخر حيث تأخذه داخل خلاياها وتحوله إلى مواد كيمائية أخرى . وبعض من هذه المواد يتحلل إلى مكونات بسيطة ، كما أن بعضا آخر منها يستعمل مباشرة فى تخليق وحدات بروتوبلازمية أعقد تركيبا . هذا والخلية البكتيرية يمكنها أن تلفظ المواد التى تستغنى عنها والتى ليس لها فائدة للخلية خارج حدودها الخلوية .

وهذه القدرة الكبيرة والنشاط الملحوظ فى عمليات البناء وكذلك القدرة الكبيرة لخلايا البكتريا على القيام بهدم المواد الكيماوية تعرف جميعا بالتفاعلات الأيضية metabolism وكلمة metabolism تعنى التفاعلات التى تتضمن انتقال مجاميع من الذرات أو ذرات فردية أو الكترونات ، من تجمعاتها فى مركبات معينة ، إلى تجمعات جديدة تظهر فى صورة مركبات أخرى. وهذه التفاعلات الأيضية يمكن تقسيمها إلى نوعين : (١) عمليات الهدم dissimilation or catabolism ، والتى تتضمن تحليل مواد التفاعل المعقدة ، (٢) عمليات البناء assimilation or anabolism والتى تتضمن بناء وتخليق المكونات الخلوية . من ذلك نرى أنه عن طريق العمليات الأيضية عموما يقل تعقيــد جزيئات بعض المواد ، كما أن جزيئات أكثر تعقيدا قد تتكون لاصلاح

المكونات الخلوية للخلايا الكبيرة أو لانتاج خلايا جديدة أثناء عمليات الانقسام الخلوى .

والتفاعلات الأيضية بالبكتيريات لاتقل تعقيدا عن تلك الخاصة بالخلايا النباتية الراقية . الا أن الانزيمات المسئولة عن هذه التفاعلات وخطوطها العريضة وأسسها العامة والغرض الأساسى من حدوثها بالنسبة للخلية ، قد تختلف قليلا فى تفاصيلها عما يلاحظ فى خلايا الكائنات النباتية والحيوانية الراقية

وسوف نخصص فصول هذا الباب لمناقشة الانزيمات البكترية والطرق العامة فى التحولات الأيضية للمركبات المختلفة وكيفية حدوثها وأهميتها الفسيولوجية لخلايا البكتيريا .

الفصـــل الأول

الأنزيمات البـكتـيرية

Bacterial Enzymes

إن النشاط الكيماوى للخلايا البكتيرية وللخلايا الحية الأخرى يرجع كلية إلى وجود الانزيمات والتى هى عبارة عن مواد عضوية تنتجها الخلايا الحية تعمل كعوامل مساعدة catalysts فى التفاعلات البيوكيماوية المختلفـة ولا تختلف الانزيمات عن العوامل الكيماوية المساعدة المستعملة فى التفاعلات الكيماوية حيث أنها تزيد من سرعة هذه التفاعلات دون أى تغيير فى طبيعة أو نسب المواد الناتجة من التفاعل ، كما أنها لاتزيد من قيمة الطاقة الناتجة عن هذه التفاعلات . وهذا يعنى أن الانزيمات لاتدخل فى التفاعلات التى تعمل فيها كعوامل مساعدة . كما أنها تشبه العوامل المساعدة الكيماوية فى أن سرعة التفاعلات التى تساعد فيها تكون متلازمة تلازما طرديا مع تركيزها .

من المعروف أن النشاط الانزيمى يعتمد على كثير من العوامل الفيزيائية ، فكما سبق أن بينا أن لنشاط كل انزيم مجال من قيمة الـ pH يعمل فى حدوده كما أن لكل انزيم قيمة مثالية من الـ pH يكون نشاطه عليها أكبر مايمكـــن . وتقع قيمة الـ pH المثالية لمعظم الأنزيمات بين ٥ — ٨ ، ولكن فى بعض الحالات الخاصة قد يتسع هذا المجال ليتراوح بين pH ٢ — ١٠ .

والعامل الكيماوى المساعد يزيد فقط من سرعة التفاعل البطىء الذى يكون قد بدأ فعلا ، اذن فالعوامل المساعدة لا يمكنها بدء التفاعلات المتوقفة كليـــة وغير معروف إلى الآن ما اذا كان هذا هو نفس الشيء بالنسبة للانزيمـــات. فكثير من التفاعلات التى تحدث فى وجود الانسجة الحية لايمكن ملاحظة حدوثها فى غياب هذه الانسجة ، ولكن كما سبق أن بينا أن عدد من التفاعلات الكيماوية قد يحدث على سرعات بطيئة جدا بدرجة يصعب ملاحظتها أو قياسها

بالطرق المعروفة ، ويحتمل حينئذ ان نعتبر ان الانزيمات تساعد فى اتمـــام التفاعلات البطيئة التى تكون قد بدأت فعلا وبالرغم من ذلك ، فان هناك كثير من العلماء من يعتقد بأن الانزيمات تعمل على بدء تفاعلات جديدة لم تكن موجودة من قبل .

وتختلف الانزيمات عن العوامل المساعدة الكيماوية فى كونها تتأثر بالحرارة thermolabile أى أنها تفسد بالحرارة المرتفعة . وقد تم عزل عدد كبير من الانزيمات فى صورة بلورية نقية وقد تبين أنها تتكون من بروتينات يتغير تركيبها أو يفسد فعلها بالحرارة المرتفعة ، والمادة التى يساعد الانزيم فى عمليات تحليلها أو فى تحويلها إلى مواد أخرى تعرف عادة بمادة التفاعل substrate وقد وجد أن غالبية الانزيمات تظهر تخصصا ملحوظا لمواد تفاعلها. وعندما يكون لمادة التفاعل مشابهين أو أكثر (isomers) فان التخصص الانزيمى قد يكون تجاه أحد هذه المشابهات فقط . ومثل هذا التخصص الدقيق للانزيمات قد استغل فيما مضى لفصل المشابهات المخلوطة عن بعضها حيث أن الانزيم قد يعمل على مهاجمة إحداها تاركا المشابهات الأخرى. ومن الناحية الأخرى قد تكون بعض الانزيمات على درجة أوسع من التخصص بحيث أنها تهاجم أى مادة كيماوية تحتوى مثلا على رابطة ببتيدية (— ك ا — ن يد—) فى تركيبها . فى حين أن البعض الآخر من هذه الانزيمات تحلل الببتيدات إلى أحماض أمينية فقط إذا كانت تحتوى على نوع معين من السلاسل الكربونية على جانبى هذه الروابط الببتيدية .

والتخصص الانزيمى يبين أن الكائن البكتيرى الذى يقوم بعديد مـــن التفاعلات الكيماوية يجب وأن يحتوى على عديد من الانزيمات كل منها يتخصص فى مساعدة تفاعل معين . وقد تكون هذه التفاعلات مرتبطة ببعضها بحيث يوفر احداها مواد تفاعل الانزيمات الأخرى بمعنى أنه ينشأ بالخليـــة سلسلة من التفاعلات المرتبطة التى تعتمد كل منها على الآخر ، وكما سبق أن

بينا أن غياب أحد هذه الانزيمات يؤدى إلى تعطيل سلسلة التفاعلات المرتبطة حيث تتكدس بالخلية مادة تفاعل الانزيم الغائب .

وتختلف كثيرا درجة توزيع الانزيمات بين البكتيريات المختلفة فاذا ، فرضنا أن سلسلة التفاعلات الخاصة بتكوين مادة أيضية هامة تتضمن أربع تفاعلات مرتبطة ، فاننا نجد أن البكتيريات تختلف فى مدى احتوائها على النظم الانزيمية الأربعة ، فبينما نلاحظ خلايا بكتيرية تحتوى على الأربعة نظم انزيمية جميعا فاننا نجد خلايا أخرى تحتوى على ثلاثة وأخرى على اثنين ، وأخرى لاتحتوى منها إلا على نظام انزيمى واحد ، وعلاوة على ذلك يمكن ملاحظة بكتيريات تكون خالية تماما من هذه النظم الانزيمية الأربعة . من ذلك نرى مدى اختلاف المواد الكيميائية التى تنتج عن النشاط الكيماوى الحلوى للبكتيريات ، حيث أن كل مادة تستعملها الخلايا تمر فى سلسلة من التفاعلات تتم بمساعدة نظم انزيمية معينة .

وتتميز التفاعلات الانزيمية بكونها تفاعلات عكسية بمعنى أن الانزيم الذى يساعد على اتمام تفاعل فى اتجاه معين يمكنه أيضا أن يساعد على اتمام التفاعل فى الاتجاه المضاد إذا ما توفرت الظروف الملائمة لذلك . والتفاعلات الانزيمية العكسية يمكنها أن تتم بنفس السرعة التى تتم بها التفاعلات الأصلية إلى أن يحدث توازن نهائى بين مكونات المواد المتفاعلة والناتجة من التفاعل . وهذا يعنى أن درجة تكدس أى مادة أيضية تتوقف على سرعة التفاعلات التى تتكون عن طريقها وكذلك سرعة التفاعلات العكسية التى تعمل على تحللها . هذا وقد تهاجم جزيئات مادة معينة بكائن بكتيرى معين بطريقة معينة مثل التحلل المائى فى حين أن نفس جزيئات المادة يمكنها أن تفقد الايدروجين نتيجة لنشاط كائن بكتيرى آخر . من ذلك نرى أن الاختلافات فى النشاط الكيماوى بين البكتيريات يرجع إلى حدوث تجمعات مختلفة من الانزيمات المختلفة وإلى مدى تأثر هذه النظم الانزيمية بالعوامل البيئية الخارجية .

طرق دراسة الأنزيمات البكتيرية :

عندما ينمو كائن بكتيرى فى بيئة غذائية ، فان النشاط الكيماوى لخلاياه يتمثل فى تحليل المواد الغذائية المكونة للبيئة وفى بناء مواد خلوية جديدة . فبينما نجد أن نوعا من البروتينات يهدم ويتحلل مائيا خارج الخلية النامية ، نجد أنواعا أخرى من البروتينات تخلق بداخل الخلايا . وعدد الانزيمات المختصة بكل هذه العمليات كبيرا جدا ، كما أن نشاط كل منها فى التفاعلات التى تساعدها يكون معقدا ومرتبطا بنشاط الانزيمات الأخرى .

اذن فأول مايمكن عمله عند محاولة دراسة الانزيمات البكتيرية أن تمنع التفاعلات البنائية داخل الخلايا وذلك بايقاف النمو . ويتم ذلك عن طريق غسل الخلايا جيدا من آثار البيئة التى كانت نامية عليها ثم تعلق الخلايا المغسولة فى ماء مقطر أو فى محلول مناسب من ملح الطعام . ويعتبر استعمال معلقات الخلايا المغسولة من الطرق المبدئية فى دراسة الانزيمات البكتيرية . وفيما عدا بعض الحالات الخاصة فانه نادرا ماتتأثر الخلايا البكتيرية نتيجة للتمزق الاسموزى عند تعليقها فى الماء . بمعنى أن عملية غسل الخلايا بالماء لاتؤدى إلى أى تأثير ضار بنشاطها الانزيمى ، ولكن إذا كان المراد دراسته النشاط الانزيمى للسطوح الخلوية فيفضل حينئذ غسل الخلايا فى محلول ملحى ذو ضغط اسموزى مشابه لذلك الخاص بالبيئة التى كانت الخلايا نامية عليها . وحيث أن الخلايا المغسولة تحتفظ بنشاط انزيماتها ، لذلك فهى تستعمل فى دراسة التغيرات الأيضية المختلفة ، وذلك باختبار مواد تفاعل مختلفة كل بمفرده ثم ملاحظة درجة تغيره فى وجود الخلايا المغسولة العالقة بمحلول منظم Buffer ذو درجة pHمناسبة . وأحيانا يفسد نشاط بعض الانزيمات البكتيرية أثناء تحضير المعلقات المغسولة من الخلايا . وبالرغم من أنه لايمكن الاحتفاظ بنشاط الخلايا المغسولة لفترات طويلة حيث ان معظم النشاط الانزيمى للخلايا يفسد خلال ٢٤ ساعة من تحضير المعلق ، إلا ان هناك بعض الانزيمات

مثل انزيم formic dehydrogenase تحتفظ بنشاطها لعدة أسابيع بعد تحضير المعلق حتى لو حدث للخلايا تحللا ذاتيا .

ودراسة النشاط الانزيمى بالخلايا المغسولة الكاملة قد يتأثر ببعض العوامل التى منها : سرعة مرور مواد التفاعل خلال الجدر الخلوية . وازالة نواتج التفاعل بفعل نظم انزيمية أخرى ، والاختلافات بين الظروف الفزيو كيمائية physio - chemical conditions بداخل وخارج الخلايا ، كما ان التفاعلات المعقدة العديدة التى تتضمن تغيرات طفيفة كل منها يحدث نتيجة لنشاط نظام انزيمى مختلف قد يصعب الحكم عليها فيما إذا كانت هذه التغيرات قد تمت نتيجة لفعل انزيم واحد أو مجموعة من الانزيمات . ويمكن التغلب على هذه الصعوبات باستعمال المستخلصات الانزيمية الخلوية بمعنى أن يكون التحضير الانزيمى خاليا من الخلايا الكاملة ثم يختبر نشاطها على مواد تفاعل مختلفة فى أنابيب الاختبار . كما يمكن فصل وتنقية الانزيمات المتواجدة بالمستخلصات بعضها عن بعض باتباع طرق فصل وتنقية البروتينات المختلفة .

فعندما تكون الخلايا البكتيرية قادرة على افراز انزيمات خارجية extracellular enzymes فان مثل هذه الانزيمات يمكن الحصول عليها على صورة خالية من الخلايا الكاملة cell - free عن طريق ترشيح المزرعة البكتيرية خلال مرشحات تمنع مرور الخلايا ثم تنفصل الانزيمات من الراشح بترسيبها أو إدمصاصها على مواد مناسبة مثل مسحوق الالومنيوم alumina powder أو جيل فوسفات الكالسيوم .

ودراسة الانزيمات الداخلية intracellular enzymes تقتضى تمزيق الجدر الخلوية قبل اجراء طرق العزل والتنقية المختلفة . وكما سبق ذكرنا أن الجدر الخلوية لخلايا البكتريا ذات صلابة ملحوظة ويصعب تمزيقها إلا انه توجد طرقا خاصة لتمزيق الجدر والتخلص منها للحصول على الانزيمات الخلوية فى صورة نشطة . وتتوقف الطريقة المتبعة على نوع الانزيم المراد عزله ومدى

مقاومته للمعاملة وكذلك على درجة صلابة الجدار الخلوى . وفيما يلى بعض الطرق المستعملة لهذا الغرض :

(ا) تعامل المعلقات المركزة من خلايا البكتيريا بمواد مثل التولوين toluene أو الاسيتون أو مخلوط من الاسيتون والاثير أو باجراء عمليات من شأنهـــا التجفيف البسيط . وإذا تحملت الانزيمات مثل هذه المعاملات فانه يمكن استخلاصها من بقايا الخلايا الممزقة بتخفيفها فى محلول منظم buffer ذو قيمة pH مناسبة .

(ب) يحضن معلق خلايا البكتيريا بعد خلطه ببعض الانزيمات المحللــة للبروتين proteolytic enzymes مثـل البيسين pepsin أو التـربسين trypsin أو البابابن papain ثم تستخلص الانزيمات من نتائج التحلل بمحلول منظم :

(ج) تمزيق الخلايا ميكانيكيا mechanical disintegration ويجرى ذلك فى أجهزة خاصة تعرف باسم مطاحن السحق ، وتعتبر طاحونة السحق التى صممها كل من Booth & Green (١٩٣٨) من اكفأ الأجهزة ذات الفاعلية فى طحن الخلايا البكتيرية ، وهى تتركب من اسطوانة من الصلب تدور بسرعة فى مسار ضيق بحيث تحدث ضغط مرتفع على الخلايا التى تدور فوقها. وهناك جهاز آخر يعرف بالـ (Ball mill) يتكون من كرة من الصلب تدور فى تجويف محكم من الصلب أيضا والتى تكون مغمورة فى ثانى أكسيد كربون صلب ، والتأثير المزدوج للضغط والتجميد يؤدى إلى تمزق الجدر الخلوية .

(د) تمزق الخلايا نتيجة للاحتكاك friction السريع للخلايا بين جزيئات صلبة . فقد أوضح Werkman وزملاؤه (١٩٤٥) أن التحضيرات الكثيفة من الخلايا البكتيرية (على صورة معجون) يمكن سحقها فى هاون خزفى أو معدنى بعد خلطها ببرادة الزجاج . وقد صمموا فيما بعد هاون

ميكانيكى يمكنه أن يسحق كميات كبيرة من الخلايا. وقد وجد بعض الباحثون الآخرون أن مساحيق الكاربورندم وكذلك مسحوق الالمنيوم يمكن استعمالها تماما كمسحوق الزجاج لهذا الغرض .

(ه) تمزيق الخلايا عن طريق التذبذبات vibration . فعند تعريض معلقات الخلايا البكتيرية إلى التذبذبات الصوتية العالية السرعة supersonic vibration ذات المجال الموجى المرتفع ينتج عنه تكسير للخلايا ويجب اتخاذ الاحتياط حتى لاتؤثر هذه التذبذبات الصوتية المرتفعة المجال على تركيب الانزيمات البكتيرية المراد الحصول عليها . لذلك فتستعمل تذبذبات ذات موجات صوتية تتراوح بين (٥٠ — ٦٠ cycle / ثانية) ويمكن زيادة كفاءتها باضافة مسحوق الزجاج أو الكاربورندم إلى معلق الخلايا .

(و) يمكن إجراء بعض المعاملات الخاصة فى حالة كائنات بكتيرية معينة فمثلا يمكن الحصول على انزيمات البكتيريا *Micrococcous lysodeikticus* وكذلك بعض السلالات التابعة للبكتيريا Staphylococci من المستخلصات الخلوية بعد معاملة الخلايا بانزيم المحلل للجدر الخلوية .

طبيعة الأنزيمات البكتيرية :

ان الدراسات السابق الإشارة اليها تؤدى عادة إلى التعرف على طبيعة الانزيمات المفصولة . فقد وجد أنه بالرغم من أن كل الانزيمات تتميز بصفات البروتينات فان الكثير منها يتكون من جزأين أحدهما ذو طبيعة بروتينية يعرف باسم (apoenzyme) والجزء الآخر غير بروتينى يعرف باسم المرافق الانزيمى coenzyme أو prosthetic group وهذا يمكنه أن ينفصل عن الجزء البروتينى من الانزيم . وعادة يكون كل من جزأى الانزيم بمفرده ، غير فعال فى سير التفاعلات إلا أن نشاط الانزيم يتمثل فى اتحاد الجزأين معا ويعرف التركيب الانزيمى الكامل باسم holoenzyme . هذا

وتختلف قوة الرابطة التى تربط بين جزأى الانزيم بعضهابعض ، فبينما نجد أن الارتباط بينهما يكون وثيقا نجد أن البعض الآخر يرتبط الجزء غير البروتينى بالجزء البروتينى ارتباطا ضعيفا بحيث يمكن له أن يتجول بين جزيئات البروتين المختلفة . وعادة يطلق على الجزء غير البروتينى من الانزيم فى الحالة الأخيرة اسم المرافق الانزيمى coenzyme . وغير معروف أى فرق بين prosthetic group والمرافقات الانزيمية غير ذلك الذى يتمثل فى قوة ارتباطهما بالبروتين ، الا أنه قد تكون prosthetic group عبارة عن جزء مكمل للتركيب الكيماوى للانزيم فى حين أن المرافق الانزيمى يعمل كحامل متنقل لايونات الايدروجين وغيره من الايونات أو المجاميع من انزيم إلى انزيم آخر . ويبين الجدول رقم ١٧ المرافقات الانزيمية أو prosthetic group المعروفة حتى الآن .

جدول رقم ١٧ : المرافقات الأنزيمية أو prosthetic group وتركيبها الكيماوى والأنزيمات المسئولة .

المرافق الانزيمى أو prosthetic group	تركيبة الكيماوى	الانزيمـــــات المسئولـــــة
(TPN) - المرافق الانزيمى Coenzyme I	Nicotinamide-adeinine dinucleotide	مرافق للانزيمات المزيلة للايدروجين حيث يعمل كمستقبل للايدروجين من التفاعلات التى تعطيه . معطى له فى التفاعلات التى تحتاجه .
NADP المرافق الانزيمى II Coenzyme II	Nicotinamide - adenine dinucleotide Phosphate	يعمل كمستقبل للايدروجين فى بعض نظم انزيمات ازالة الايدروجين .

الأنزيمات المسئولة	تركيبه الكيماوى	الرافق الأنزيمى أو Prosthetic group
يعمل كمعطى للفوسفات فى تفاعلات الفسفرة مثل تلك التى تحدث فى دورة التخمر . ويرتبط الفوسفات فى جزيئات هذه المادة بروابط غنية بالطاقة حيث ان انكسارها ينطلق عنه طاقة	Adenosine-triphosphate الادينوسين ثلاثى الفوسفات	A T P
porsthetic group للانزيمات التى تعرف باسم flavoproteins وهى تعمل كناقلات للايدروجين فى تفاعلات الاكسدة والاختزال المتبادلة . ويحدث ذلك نتيجة الاكسدة الروابط المزدوجة التى تحتوى عليها حلقة ايزوالوكسازين	Adenine-ribofiaʌin-dincleotide	FAD Flavoadenine dinucleotide
يعمل Prosthetic group للانزيمات المعروفة باسم cytochiome reductase	تتكون من ريبوفلاين متصل به مجموعة فوسفاتية واحدة	Ribofiavin phosphate
يعمل Prosthetic group للانزيمات المعروفة باسم carboxylases وبخاصة pyruvic carboxylse كما أنها تلعب دورا فعالا فى الانزيمات المعروفة pyruvic decarboxylases وهى تعمل بطريقة ما غير متعرف عليها بعد فى اكسدة بعض الأحماض الدهنية .	Thimine diphosphate (Aneurindiphosphate)	Coearboxylase

المرافق الأنزيمى أو Prosthetic gronp	تركيبه الكيماوى	الأنزيمات المسئولة
صورة المرافق الانزيمى من الفيتامين ب ٦ (B 6)	pyridoxal phosphate or pyrdoxamine phosphate	يعمل كمجموعة prosthetic للانزيمات amino acid decarboxylases وكذلك للانزيمات Tranaminases وفى الحالة الأخيرة يتفاعل مع مجموعة الأمين بالأحماض الأمينية محولا إياها إلى أحماض كيتونية حيث يتحول هو إلى الصورة الأمينية :— pyrdoxamine phosphate وهذا يتفاعل مع الأحماض الكيتونية الأخرى محولا إياها إلى أحماض امينية .
Haematin	يشبه فى تركيبه الهيموجلوبين	يعمل prosthetic group للانزيمات المعروفة باسم الكاتاليزا ، البيروزاوكسيداز والسيتوكروم لوكسيداز ـ وقد يختلف تركيب السلسلة الجانبية والمحتوى عليها جزيئاته تبعا لنوع الانزيمات التى يرافقها.
ايونات المعادن	بعض الانزيمات تحتوى على معادن فى تركيب جزيئاتها والبعض الآخر لا يعمل الا فى وجود ايونات بعض المعادن التى تعمل كمرافقات انزيمية	انزيمات الفسفرة phosphatases يعمل فقط فى وجود ايونات المغنسيوم. الانزيمات المعروفة polyphenol ox idase تحتوى على ايونات نحاس فى تركيب جزيئاتها. الانزيم Carbonicdehydrase يحتوى على أيونات الزنك فى تركيب جزيئاته.

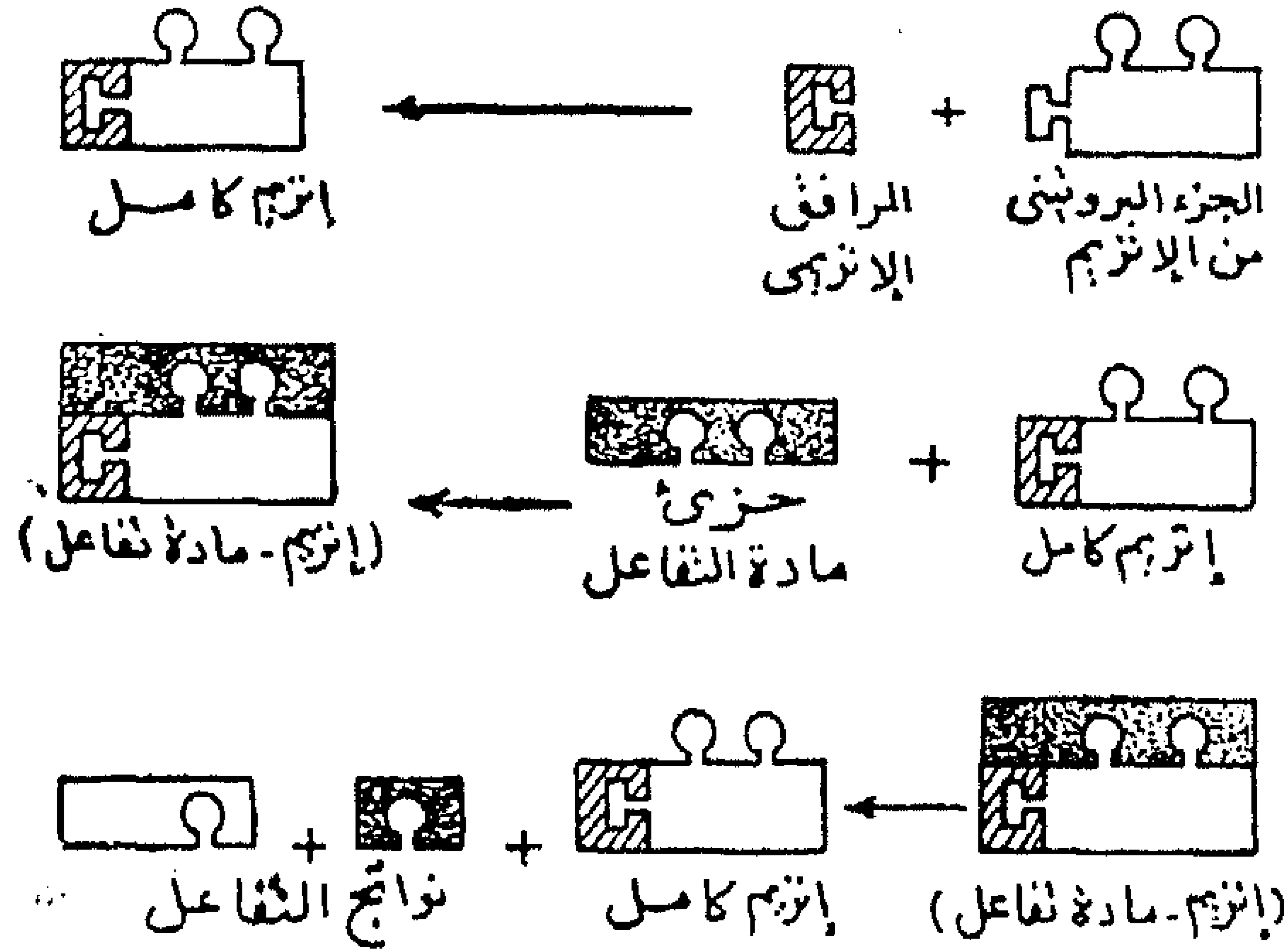
الأنزيمات المسئولة	تركيبه الكيماوى	المرافق الأنزيمى أو Prosthetic group
تعمل prothetic group للانزيمات acetylases . يعمل فى التفاعلات التى تقتضى نقل مجاميع الاسيتيل فهو هام فى عملية cholineacetylation وفى تكدس الخلات أو الأوكسالاسيتيك لتكوين حمض الستريك . ويتواجد المرافق الانزيمى فى الصورة acetylated أو nonacetylated	يحتوى على حمض pantothenic acid فى صورة معقدة تعرف باسم pantotheine كما أنها تحتوى ايضا على adenylic acid	المرافق الأنزيمى ا Coenzyme A
مرافق للانزيم aspastic deaminase فقط .	يحتوى على أحد أفراد مجموعة الفتامين B المعروف باسم البايوتين (فيتامين H) ويحتمل أن يكون مكونا من البيوتين وحمض الادينيليك الا أن تركيبه الكامل لا زال معروف على وجه التحديد يتواجد فى مستخلص الخميرة	Biocytin يعرف أحيانا بالمرافق الأنزيمى Coenzyme R

طبيعة النشاط الانزيمى

يمكن تفهم أهمية عمل المرافقات الانزيمية من دراسة طرق تغذية البكتيريا غير ذاتية التغذية التى تشترط وجود الفيتامينات (فى صورة مرافقات انزيمية) فى بيئاتها لكى تنمو وتتكاثر أن كما سبق أن بينا فى الباب الرابع .

وقد يحدث أن تشترك عدة انزيمات فى مرافق انزيمى واحد بالرغم من

اختلاف تفاعلها . ومن المحتمل أن تقوم المرافقات الانزيمية بدور ملحوظ فى تحلل مواد التفاعل الا أن التخصص الانزيمى تجاه مادة التفاعل يرجع إلى الجزء البروتينى من الانزيم . ويعتقد أنه قد يحدث نوعا من الارتباط غير المحكم بين مادة التفاعل والجزء البروتينى من الانزيم قبل حدوث التفاعل وأن وجود المرافق الانزيمى يسمح بزيادة الارتباط بينهما ويبين الرسم التخطيطى التصويرى (شكل ٩٨) أهمية المرافقات الانزيمية فى حدوث التفاعلات الانزيمية .



شكل ٩٨ : رسم تخطيطى لاظهار طريقة إتحاد البروتين الانزيمى مع المرافق الانزيمى لتكوين جزىء أنزيمى كامل وكيفية اتحاد الأخير بمادة التفاعل لاحظ تغيير جزىء مادة التفاعل وتكوين جزيئيان جديدان هما ناتج التفاعل . كما يلاحظ أن جزىء الانزيم الكامل لم يتغير ويمكنه اعادة التفاعل من جديد .

وعلاوة على ماتقدم نجد دائماً أن الفعل الأنزيمى لايعتمد فقط على وجود المجموعة الكيماوية التى سوف تتغير عند اتمام التفاعل ، بل أيضاً على المجاميع الأخرى فى جزأى مادة التفاعل ، والأخيرة تكون لازمة لارتباط المرافق الانزيمى بالبروتين الانزيمى (شكل ٩٨) .

ولايضاح ماتقدم نسوق المثال التالى : فالانزيم لايسين ديكاربوكسيلاز Lysine decarboxylase ، الذى يهاجم مجموعة الكربوكسيل بالحمض الأمينى ل — لايسين .

(يد٢ ن–كيد٢ – كيد٢ – كيد٢ – كيد٢ – ك يد ن يد٢ – كا ا يد)
لايمكنه أن يهاجم مجموعة الكاربوكسيل من جزىء هذا الحمض الامينى إلا إذا كانت مجموعتيه الأمينيتين سليمتين وغير مشغولتين بمجاميع أخرى . كما أن هذا الأنزيم لايمكنه مهاجمة المشابه الآخر (dextro) من اللايسين كما لايمكنه مهاجمة حمض L- ornithine والذى يختلف عن اللايسين فقط فى نقص ذرة كربون واحدة من سلسلته الكوبونية . فقبل أن يهاجم هـــذا الأنزيم مادة تفاعله يجب أن يتوفر مايأتى :

١ – مجموعة كاربوكسيل (– كاايد) خالية ، ٢ – مجموعة أمين) (–ن يد٢ (فى الوضع laevo ، ٣ – مجموعة أمين أخرى فى نهاية سلسلة الجزىء ٤ – وجود مسافة تقدر بخمس ذرات كربونية فى السلسلة بين مجموعتى الأمين .

ان مجاميع الكربوكسيل ومجاميع الأمين مجاميع قطبية فعالة كماويا polar ويعتقد أنه يحدث إتحاد بين هذه المجاميع والمجاميع المقابلة لها على سطـــح البروتين الانزيمى قبل حدوث التفاعل decarboxylation والذى يحدث فى هذه الحالة أن جزىء اللايسين يرتبط بجزىء البروتين الانزيمى عن طريق مجموعتيه الأمينيتين قبل فصل (ك ا٢) من مجموعة (– كاايد) . وإذا استبدل أى من المجموعتين الأمينيتين فى جزىء اللايسين بمجموعة مثيليه كيد٣ مثلا فإن هذا يمنع الارتباط بينه وبين البروتين الانزيمى ويتوقف التفاعل . كما أن حدوث أى تغيير فى طول السلسلة الكربونية يضع مجموعتى الأمين فى وضع غير ملائم لحدوث الارتباط بين مادة التفاعل والبروتين الانزيمى ومثل هذه العلاقة بين الانزيم ومادة تفاعله قد توضح لنا أيضا كيف يمكن للانزيم أن يهاجم المشابه lavo ولايمكنه أن يهاجم المشابه dextro من جزيئات نفس المادة . حيث أن الأول يسهل ارتباطه بالبروتين الانزيمى فى حين لايمكن ذلك للمشابه الآخر .

وهذه النظرية أعنى أن كل من مادة التفاعل وسطح البروتين الانزيمى يجب أن يناسب بعضها بعض فى أمكنة معينة قد شبهت فى الماضى بالقفل ومفتاحه حيث يجب أن يلائم المفتاح القفل قبل حدوث أى شىء آخر .

وإذا كانت المجاميع المخصصة للارتباط والمتواجدة على سطح الانزيم تختلف قليلا فى مواضعها عما يجب أن تكون عليه لحدوث الارتباط بالمجاميع الفعالة من مادة التفاعل فإن الارتباط بينهما حينئذ يكون ضعيفا بدرجة لاتسمح بحدوث التفاعل .

واحتياج الانزيمات إلى مرافقات انزيمية عضوية كانت أم معدنية (ايونيه) تعمل على جعل سطوح البروتين الانزيمى أكثر صلاحية للارتباط بمواد التفاعل .

وهناك أربع حالات عامة توضح أهمية المرافقات الانزيمية فى تسيير التفاعلات .

(ا) إذا لم يحتاج الانزيم إلى مرافق فإن سطح البروتين الانزيمى يكون ذا تركيب كاف لحدوث الارتباط بينهما .

(ب) إذا احتاج الانزيم إلى مرافق انزيمى معدنى وليس عضوى . فهنا يمكن القول أن القوى على سطح جزيئات البروتين الانزيمى ليست مناسبة لحدوث الارتباط بمادة التفاعل وأن وجود ايونات المعدن وادمصاصها على سطح البروتين فى أمكنة معينة ، تضفى عليه التركيب المناسب لحدوث الارتباط بينه وبين جزيئات مادة التفاعل .

(ح) إذا احتاج الانزيم إلى مرافق عضوى فقط ، فإن ادمصاص المرافق الانزيمى على سطح البروتين الانزيمى تجعله ، فى حالة أصلح للارتباط بمادة التفاعل .

(د) احتياج الانزيم إلى كل من المرافقات العضوية وغير العضوية فإن

ذلك يمكن تفسيره بطريقتين : ١ — الاحتياج للايونات المعدنية يهىء المكان المناسب على سطح الانزيم لادمصاص المرافق العضوى وهذا بدوره يجعل سطح الانزيم أكثر ملاءمة للارتباط بمادة التفاعل . أو أن كلا من المرافق الانزيمى الأيونى والعضوى يدمصان على سطح الانزيم فى موضعين مختلفين على سطح الانزيم وهذا يهىء السطح المناسب للارتباط بمادة التفاعل .

ويجب أن نعلم أنه يمكن لبعض المرافقات الانزيمية أن تؤدى وظيفة أخرى غير تهيئة السطح المناسب للتفاعل حيث أن بعضها يتدخل فى التفاعل نفسه مثل DPN أو TPN التى تنقل الايدروجين من مادة إلى أخرى. والذى يحدث أن المرافق الانزيمى يختزل أثناء العملية $DPNH_2$ أو $TNPH_2$ ثم تتأكسد عندما يعطيها للمواد الأخرى . وهناك مرافق انزيمى آخر (المرافق الانزيمى ا CoenzymeA) ينقل مجاميع الاسيتيل (كيدم — كا —) من نظام انزيمى إلى آخر .

ويجمل أن نشير هنا إلى الظاهرة التى تعرف بالتثبيط الانزيمى التنافسى competitive ihibition والتى سبق وصفها فى الباب الرابع من هذا الكتاب. الاأننا سنشير هنا إلى أهميتها من ناحية عكسية الارتباطات الانزيمية، فلكى يستمر التفاعل الانزيمى يشترط ارتباط مادة التفاعل ارتباطا عكسيا بحيث أنه عقب حدوث التفاعل تترك نواتج التفاعل سطح الانزيم ، لكى يرتبط ثانية بجزيئات أخرى من مادة التفاعل .

أما إذا حدث الارتباط بين المجاميع الفعالة من سطح الانزيم بمادة تنافسية لاتتركه أى أنها لاتتحول إلى ناتج تفاعل فتظل مرتبطة بسطح الانزيم معطلة له ومانعة لوصول جزيئات مادة تفاعل جديدة إليه. كل هذا يؤدى إلى إيقاف التفاعل ، بمعنى أن التفاعل الذى يساعد فيه الانزيم لايتم ، ومثل هذه الحالة يمكن أن يشار إليها أيضا بأنها عملية تثبيط انزيمى تنافسى . ومثال ذلك حمض المالونيك (كاايد — كيد٢ — كاايد) الذى يتحد بانزيم Succinic dehydrogenase مانعا مهاجمة الانزيم لحمض السكسنيك (كاايد — كيد٢ — ك يد٢ —

كالايد) . وقد سبق أن بينا فعل مركبات السلفونا ميد التنافسى للنشاط الانزيمى الخلوى اللازم لتكوين حمض الفوليك .

انواع الانزيمات البكتيرية

تقسم الانزيمات تبعا للتفاعلات التى تعمل فيها كعوامل مساعدة فالانزيمات التى تساعد فى تفاعلات إزالة الايدروجين تعرف باسم dehydrogenases وتلك التى تساعد فى تفاعلات إزالة الأيدروجين تعرف باسم decarboxylases ويشار أيضا إلى الانزيم علاوة على ذلك باسم مادة التفاعل التى يعمل عليها الانزيم فيقال pyruvic decarboxylase أو succinc behydrogenase

وتحتوى الخلايا البكتيرية على عدد كبير من الانزيمات المختلفة والتى تقوم بالمساعدة فى التفاعلات الاساسية التالية :

اولا : الاكسدة والاختزال Oxidation and Reduction

من الناحية الكيماوية يقال أن المادة تأكسدت إذا مافقدت الكترونات واختزلت عندما تكتسب الكترونات جديدة وحينما تحدث عمليات الأكسدة فإنه يحدث فى نفس وقت عملية اختزال حيث أن الالكترونات التى تفقدها مادة معينة تكتسبها مادة أخرى . والأمثلة التالية قدتوضح عمليتى الأكسدة والاختزال المرتبطتين .

١ — عندما يحرق عنصر الزنك (الخارصين(فى وجود الأكسجين يتكون المركب المعروف بأكسيد الزنك (الخارصين) طبقاً للمعادلة التالية :



ولترجمة هذا التفاعل بلغة تبادل الالكترونات. يجب أن نراعى الاختلافات التى قد تكون قد حدثت فى تكافؤ المواد المتفاعلة . وتكافؤ العنصر عندما يتواجد فى مركب هو عبارة عن عدد الالكترونات التى تكتسبها أو تفقدها

كل ذرة من ذراته أو قد تقتسمها مع ذرات العنصر الآخر فى المركب . والعنصر فى حالته الحرة غير المرتبطة فى صورة مركبات ، تعرف بأن لهـا تكافؤ يقدر بصفر . إذن فالمركب اكسيد الزنك الناتج يمكن كتابة معادلتـه هكذا خ ++ ا-- .من ذلك يتضح أن فى التفاعل السابق قد حدثت التغييرات التالية فى تكافؤ الزنك والأكسجين .

خ تغير من صفر إلى + ٢ حيث أنه فقد الكترونين بمعنى أنه تأكسد
ا٢ تغير من صفر إلى −٢ حيث أنه اكتسب الكترونين بمعنى أنه اختزل

٢ — عندما يعامل عنصر الزنك بحمض الايدروكلوريك فإن المعـدن يتأكسد أيضا طبقا للمعادلة التالية



ويلاحظ أن الخارصين قد فقد هنا أيضا الكترونين (تأكسد) وأن الايدروجين قد اكتسب الكترونين أيضا (اختزال) . كما يلاحظ أن هـــذا التفاعل قد تم دون تدخل للاكسجين . ولكن لازالت الصفة الدائمة لعملية التأكسد هو فقد الالكترونات وفى نفس الوقت تحدث عملية اختزال وهـى اكتساب الكترونات .

من ذلك يتضح لنا أن عمليات الأكسدة ليست مقصورة على اتحاد المواد بالاكسجين وهذا واضح أيضا فى أن بعض البكتيريا ت يمكنها أن تنمو فى غياب الأكسجين anaerobically ولكنها تكون قادرة على الحصول على الطاقة اللازمة لها من عمليات الأكسدة . لهذا يلزم أن نميز بين عمليات الأكسدة البيولوجية التى تستعمل الأكسجين الغازى وتلك التى لاتستعمله . وتعرف عمليات الأكسدة البيولوجية الهوائية التى تتبع النوع الأول (تستعمل الأكسجين) اسم التنفس respiration فى حين أن الأكسدة البيولوجية غير الهوائيـة (فى غياب الأكسجين) تعـرف باسم التخمرات fermentation . وكـلا العمليتين أعنى التنفس والتخمر تعتبر الطرق الأساسية للحصول على الطاقـــة

اللازمة الخلايا الحية حيث أن كلا منهما يؤدى إلى أكسدة بعض المواد ولكنهما يختلفان عن بعضهما فى الطريقة التى يزال بها الأيدروجين.

وعمليات الأكسدة والاختزال البيولوجيتين تتم بمساعدة نوع من الانزيمات طلق عليها اسم الانزيمات المزيلة للايدروجين dehydrogenases ، وكل متخصص لمادة تفاعل معينة وقد تم عزل عددا كبيرا منها من الأنسجة الحيوانية ومن خلايا الخميرة وخلايا البكتيريا ومن أهم هذا النوع من الأنزيمات والتى عزلت من البكتيريا *E. coli* تلك التى تزيل الايدروجين من حمض الفورميك محولة إياه إلى (ك ا$_2$) ، وتلك التى تحول حمض الماليك إلى حمض اكسالواستيك ، وتلك التى تحول كحول الايثايل إلى اسيتالدهيد ، وتلك التى تحول حمض السكسنيك إلى حمض فيوماريك . وتختلف هذه الانزيمات فى حالة التنفس عنها فى حالة التخمر حيث أنها توصل الايدروجين فى الحالـــــة الأولى إلى الاكسجين الغازى فى حين أن الايدروجين المفصول فى حالة التخمر لايوصل أو يستقبل بالأكسجين . وسوف نناقش هذا النوع من الانزيمات بشىء من التفصيل فى الفصل التالى .

ثانيا : التحلل المائى : Hydrolysis

انزيمات التحلل المائى hydrolytic enzymes هى المسئولة عـــــن العمليات التى تعرف بعمليات الهضم والتى يتحلل فيها البروتين إلى أحماض أمينية ، والدهون إلى أحماض دهنية وجلسرول ، والكربوايدرات المعقدة إلى عديدات تسكر أقل تعقيدا أو إلى سكريات أحادية .

وانزيمات تحليل البروتينات proteolytic enzymes ، يمكنهـا أن تكسر الروابط الببتيدية (ـ ك ا ـ ن يد ـ) . فهى تكسر الببتيدات المحتوية على هذه الروابط إلى مركبين احدهما يحتوى على رابطة كربوكسيل حره (ك اايد) والأخرى تحتوى على مجموعة امين (ـ ن يد$_2$) حرة نتيجة لتكسير الرابطة الببتيدية .

وتختلف الانزيمات المحللة للبروتين فى تخصصاتها نحو المجاميع الكيماويـــة المتواجدة على جانبى الرابطة الببتيدية . ونحو طول السلسلة الببتيدية الـــتى تهاجمها . فبعضها يهاجم الببتيدات ذات السلاسل الطويلة أو الجزيئات البروتينية الكبيرة وهى فى حالتها الطبيعية ، والبعض الآخر يهاجم البروتين فقط بعد هرجلة الجزيئات البروتينية ، والبعض الآخر يهاجم البوليببتيدات ذات السلاسل القصيرة كما نجد أن هناك بعض الانزيمات المتخصصة لتحليل الببتيدات ذات الأعداد المحدودة من الأحماض الأمينية (٢ ، ٣ ، ٤). وبعض هذه الانزيمات التى يطلق عليها اسم peptidases تظهر تخصصا نحو حمض امينى معين على جانبى الرابطة الببتيدية حتى تتمكن من كسرها . وبالرغم من أن الانزيمات proteases أو peptidases المعزولة من الأنسجة الحيوانية قد درست بالتفصيل إلا أن المعلومات عن تلك الخاصة بالخلايا البكتيرية لازالت قليلة نسبيا ؟

وحيث أن جزيئات البروتين لا يمكن مرورها خلال الجدر الخلويـــة ، إذن فلهضمها يجب أن تفرز الخلية البكتيرية أنزيمات محللة للبروتين خـــارج حدودها فى البيئة حيث تتم عمليات الهضم . وهذه القدرة تبدو أنها محصورة فى أنواع بكتيرية قليلة . إلا أن غالبية البكتيريا يمكنها أن تهضم جزيئات أبسط تركيبا مثل الببتون والببتيدات العديدة polypeptides ، وباستثناء حالات فردية لم يتم بعد عزل أو فصل الانزيمات المسئولة عن هذا التحلل وهناك بعض البكتيريات يمكنها إفراز انزيم (الجيلاتيناز gelatinase) الذى يحلل ، الجيلاتين مائيا ، وبالتالى يمكنها أن تسيل بيئات الجيلاتين التى تنمو عليهـــا ومثل هذه القدرة تستغل كصفة تفريقية بين البكتيريات فى الأغراض ، التصنيفية وجدير بالذكر أن القدرة على إفراز الجيلاتينـاز لا تعنى أن الخلايا تكون قادرة على إفراز الانزيمات الأخرى المحللةللبروتينات المعقدة proteases.

وقدرة البكتيريات على تحليل عديدات التسكر مائيا ، يقتضى أيضـــا

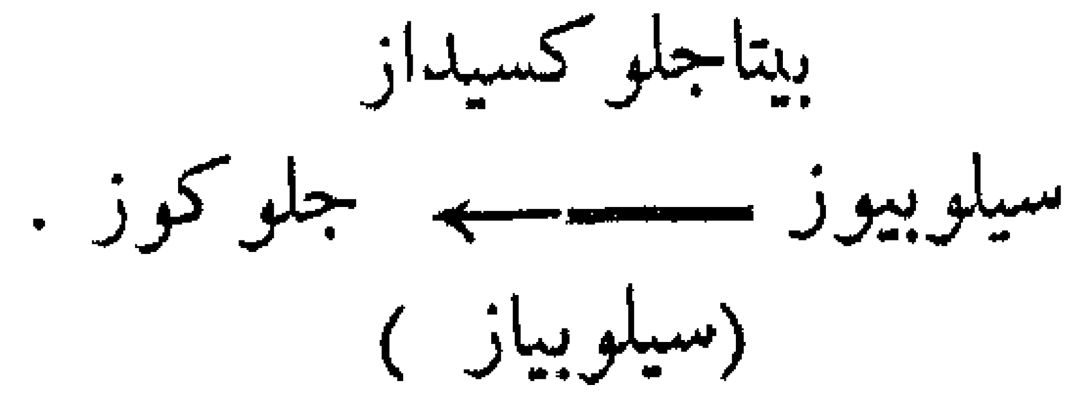
إفراز انزيمات خارجية . كما أن هذه القدرة تكون عرضة للتصنيفات شأنهـا شأن الصفات التخمرية التى تستعمل كصفات هامة فى أغراض التقسيم والتصنيف . ودرجة التخصص الانزيمى فى تحلل عديدات التسكر مائيا تعتمد على طبيعـة الروابط التى تربط وحدات السكريات الأحادية فى سلسلة عديدات التسكر . فمثلا نجد أن البكتريا *Glostridium welchii* لايمكنها تحليل النشا إلا إذا سبق تنميتها فى وجود النشا لفترة من الزمن . كما أن مثل هذه البكتريا التى تكون قد تطبعت على تحليل النشا يمكنها أيضا أن تحلل سكر المالتوز والجليكوجين مائيا . وبالمثل إذا ماأقلمت هذه البكتريا على النمو فى وجود المالتوز فإنـــه يمكنها تحليل كل من النشا والجليكوجين . من الواضح إذن أن الانزيم أو الانزيمات اللازمة لتحليل النشا أو الجليكوجين أو المالتوز مائيا ، لايمكنهـا أن تتكون إلا إذا نميت الخلايا أولا فى وجود أحد هذه المواد الكربوايدراتية وقد وجد أن التنمية المبدئية لهذه البكتريا فى وجود الجلوكوز لاتؤدى إلى إفراز الانزيمات اللازمة لتحليل المواد الكربوايدراتية المعقدة السالفة الذكر . ويمكن أن نفترض على ضوء ماتقدم أن مثل هذه الانزيمات ، تعتبر انزيمات تطبعية ، تكون متخصصة لتحليل روابط معينة كالتى تتواجد بجزيئات سكر المالتوز .

ويتم تحليل النشاط بواسطة البكتريا *Cl. acetobutylicum* عن طريق انزيمين الأول هو أحد إنزيمات amylases والذى تحلل النشا إلى مالتوز ، والثانى عرف بأنه انزيم maltase يحلل سكر المالتوز إلى وحدات من سكر الجلوكوز .

ويهاجم السليلوز بعديد من الكائنات الحية الدقيقة نتيجة لافرازها انزيمات كانت تعرف فيما مضى باسم سليلاز cellulase تحلل السليلوز إلى سيلوبيوز cellobiose ثم يعمل انزيم آخر يسمى بيتاجلوكوسيداز (سيلوبياز) عـلى السيلوبيوز محللا إياه إلى وحدات من سكر الجلوكوز .

واقترح حديثا وجود انزيم يطلق عليه (G I) يهاجم السليلوز مؤديـــا فعله على السليلوز البلورى المقاوم لتشرب الماء نظرا لشدة ارتباط وحداتــه وأن فعل هذا الانزيم يضعف هذا الارتباط وتجعل الياف السليلوز ذات قدرة أكبر على تشرب الماء . ثم تبدأ مجموعة أخرى من الانزيمات تعرف (Cx) محولة المواد غير الذائبة الناتجة من فعل الانزيم C_1 والتى هى عبارة عن سلاسل مستقيمة من بولى انهيدرو جلوكوز polyanhydroglucose إلى سكريات

ذائبة وبخاصة سيلوبيوز . ويعقب ذلك أن يقوم الانزيم B . glucocidase (بيلوبياز) تحليل السيلوبيوز إلى وحدات جلوكوز كما هو مبين بالمعادلة التالية



سليليولوز C_1 سلاسل مكونة من البولى انهيدوجلو Cx(a,b,c) سيلوبيوز

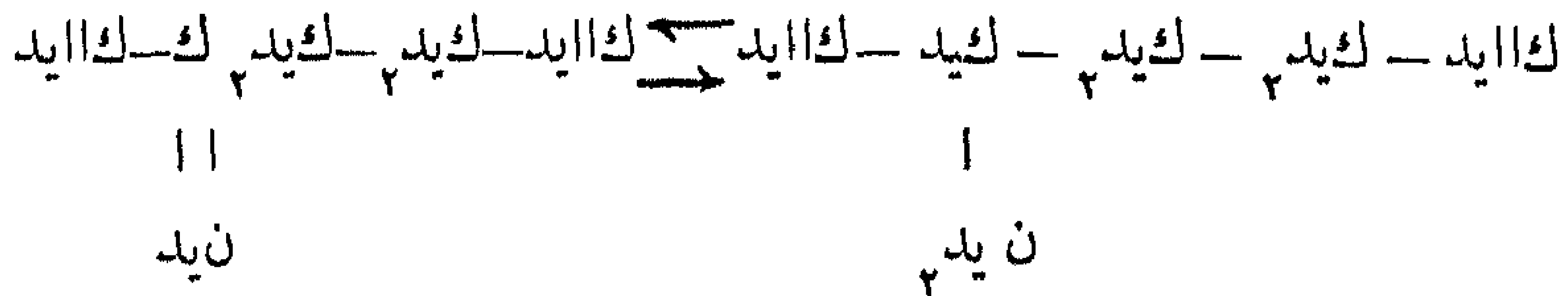
بيتاجلوكسيداز

سيلوبيوز ←—— جلوكوز .

(سيلوبياز)

ثالثا : ازالة مجاميع الامين : Deamination

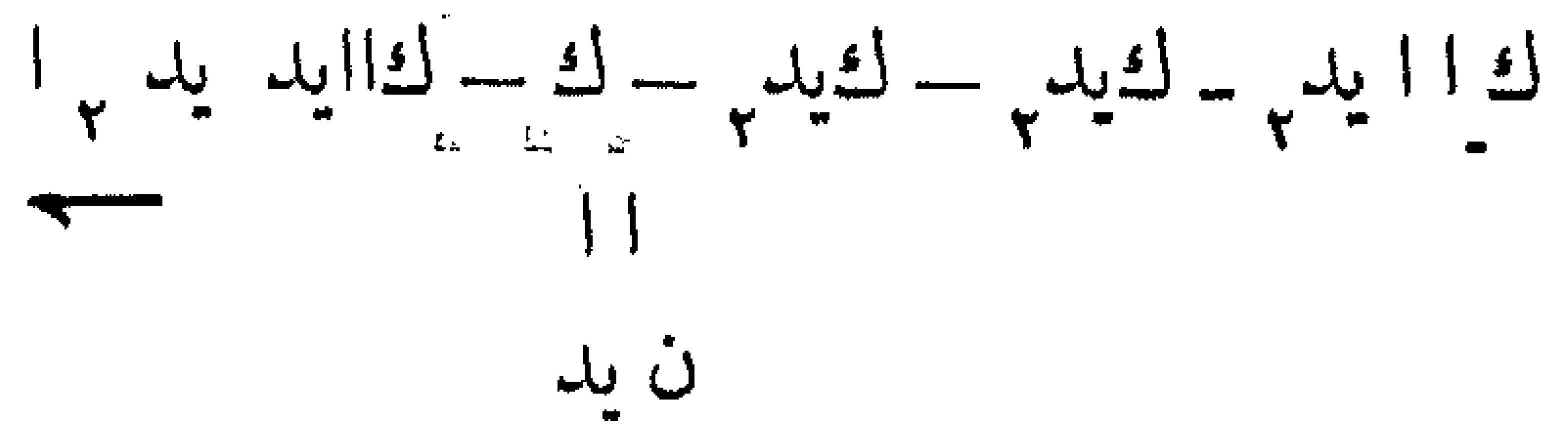
ان عملية إزالة مجاميع الأمين من جزيئات الأحماض الأمينية ، والامينات نادرا ماتتم على خطوة واحدة ولايضاح ذلك نسوق المثال التالى للانزيم المعروف باسم L -glutamic acid deaminase الذى يوجد بالبكتريا *E. coli* حيث تحدث الخطوة الأولى بإزالة الايدروجين من الحمض الأمينى وتحويله إلى الصورة الايمينو المقابلة



ك اايد — ك يد٢ — ك يد٢ — ك يد — ك اايد ⇄ ك اايد — ك يد٢ — ك يد٢ ك — ك اايد

| ن يد٢ ‖ ن يد

ويعقب هذا حدوث تحلل مائى لحمض الايمينوجلوماتيك الناتج مؤديا إلى انفصال مجموعة الأمين على صورة امونيا .

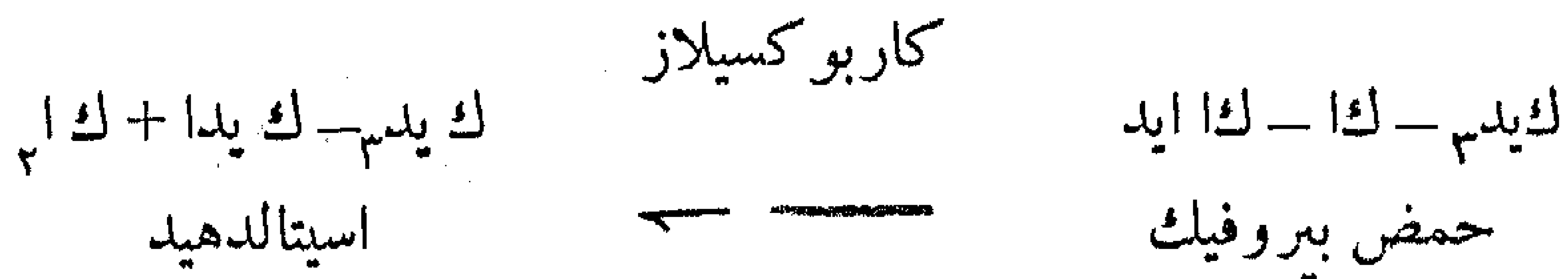




ويمكن لعمليـة إزالة مجاميع الأمين من لأحماض الأمينيـة عن طـريق اختزالى ، أو طريق تحللى أو طريق غير تشبعى desaturation كما سيلى ذكره عند مناقشة التحولات الأيضية للبروتينات والأحماض الأمينية .

رابعا : إزالة مجاميع الكربوكسيل : Decarboxylation

تلاحظ عملية إزالة $ك\,ا_٢$ من مجاميع الكربوكسيل فى جزيئات الأحماض الأمينية أو الأحماض الكيتونية ، فيمكن مثلا للاحماض الفا كيتونية œ - Ketoacids بخلايا الخميرة أن تتحلل عن هذا الطريق بواسطة انزيم الكاربوكسيلاز carboxylase والذى أمكن عزله ودراسته فى صورة نقية . ويتكون هـذا الانزيم من جزء بروتينى مرتبط ارتباطا غير محكم بمرافق انزيمى هو فوسفات ثنائى الثيـامين thiamindiphosphate . ويهاجم هذا الانزيم جـزىء الحمض الكيتونى فاصلا منه جزىء ثانى اكسيد الكربون وتاركا الالدهيد المقابل طبقا للمعادلة التالية .

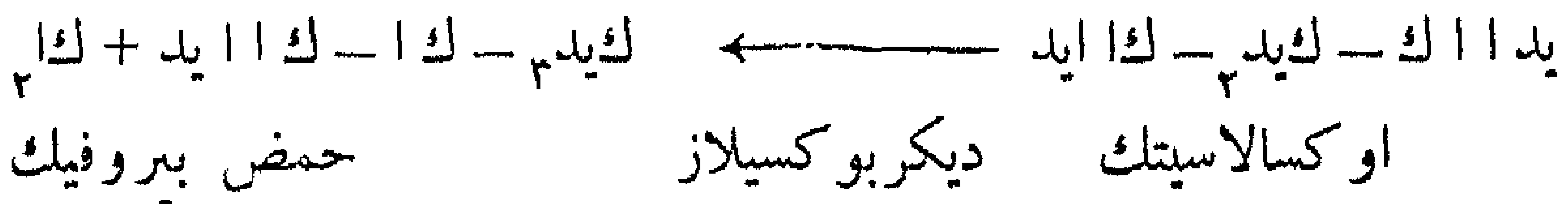


وعادة يهاجم حمض البيروفيك عن طريق هذا الانزيم بدرجة أكثر من غيره من الأحماض الكيتونية ويلاحظ أنه كلما زاد طول السلسلة الكربونية للحمض المهاجم كلما بطؤ معدل تحلله عن هذا الطريق .

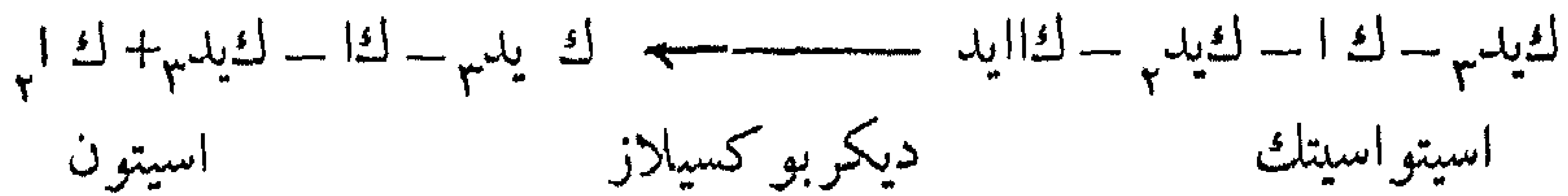
ولم يلاحظ انزيم الكاربوكسيلاز ضمن المحتويات الانزيمية للبكتيريا *E. coli* ويبدو أنه ليس له دور كبير فى التحولات الايضية البكتيرية . إلا أن تحلل

حمض البيروفيك داخل الخلايا البكتيرية وتحوله إلى اسيتالدهيد لاتعتبر عملية بسيطة ولكنها تقتضى عمليات أخرى تحتاج بدورها إلى وجود ثيامين ثنائى الفوسفات .

وانزيمات الكاربوكسيلاز المعزولة من خلايا الخميرة وجد أنها تظهر تخصصا للأحماض الكيتونية التى تهاجمها ، ولكن فى بعض البكتيريات نجد انزيمات أخرى تكون أقل تخصصا حيث يمكنها فصل ثانى أكسيد الكربون من أى حمض كيتونى . فالبكتيريا التابعة للجنس *Aztobacter* وكـــذا البكتيريا *Micrococcus lysodeikicus* تحتوى على انزيم يعمل على فصل ك١٢ من حمض الاوكسالاسيتك محولا إياه إلى حمض بيروفيك كما فى المعادلة التالية :



ووجد أيضا أن البكتيريا *Cl. acetobutylicum* تمتلك انزيم يمكنه المساعدة فى عملية فصل ك١٢ من حمض الاسيتواسيتك محولة إياه إلى اسيتون كما يلى :



وقد درست كل هذه الانزيمات باستعمال المستخلصات الخلوية ويبدو أنها لاتحتاج إلى مرافق انزيمى (ثيامين ثنائى الفوسفات) .

ويمكن لبعض البكتيريات أن تهاجم أيضا بعض الاحماض الأمينيـــة المعينة لتفصل منها جزىء ثانى أكسيد الكربون ومحولة إياها إلى الامينـــات المقابلة كما فى المعادلة التالية :

(س) ــ ك يد ــ ن يد$_2$ ــ ك ا ا يد ——> (س) ــ ك يد $_2$ ــ ن يد $_2$ ــ ن يد$_2$
حمض امينى الامين المقابل

والانزيمات المزيلة لثانى أكسيد الكربون من الأحماض الأمينية تعرف باسم amino-acid decarboxylases ، يكون كل منها متخصصا لمهاجمة حمض امينى معين . ومثل هذه الانزيمات والتى تم عزلها إلى الآن من خلايا البكتيريا ، تلك المتخصصة لمهاجمة حمض اللايسين والأرجينين ، والهيستدين والاورنوثين والتايروسين وحمض الجلوتاميك . ومن الملاحظ أن كل هذه الأحماض الأمينية تحتوى على مجموعتين فعالتين غير مجموعة الالفا امين ، ومجموعة الكربوكسيل الأولى ، فإذا حدث أن عطلت المجموعة الفعالة الثالثة (المجموعة الأمينية الثانية فى كل من اللايسين والاورنوثين والارجنين) أو (مجموعة الهيدروكسيل فى التايروسين) أو (مجموعة الكاربوكسيل الثانية فى حمض الجلوتاميك) بأى طريقة من الطرق فإن هذا يؤدى إلى توقف عملية فصل ثانى أكسيد الكربون . وهذا يوضح كما سبق أن بينا أن مادة التفاعل ترتبط بالبروتين الانزيمى فى موضعين على الأقل غير مجموعة الكاربوكسيل التى ستهاجم .

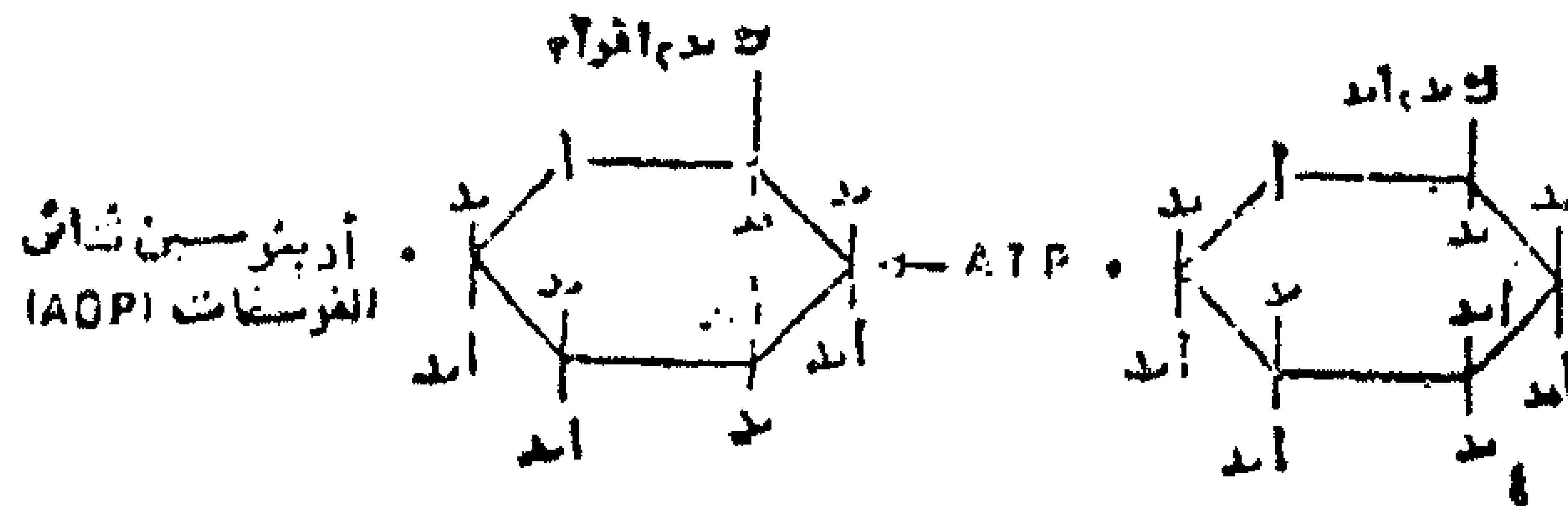
وكما سبق أن ذكرنا أن ناتج عملية إزالة ك ا$_2$ من الأحماض الأمينية ينتج عنه تكوين الأمينات amines المقابلة فيما عدا حمض الجلوتاميك الذى ينتج عنه حمض البيوتيريك الأمينى amino butyric ، وقد وجد أن أنزيمات amino-acid decaboxylases تتطلب مرافقا أنزيميا يمكن الاستعاضة عنه بإضافة البيرودوكسال فوسفات Pyridoxal phosphate .

خامسا : عمليات الفسفرة : phosphorylation

إن عمليات الأكسدة غير الهوائية للكربوايدرات بخلايا الخميرة والأنسجة الحيوانية تقتضى فسفرة هذه الكربوايدرات مبدئياً عن طريق سلسلة من

التفاعلات التى تتضمن المركب الأدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATB) والفوسفات غير العضوية . والمركبات المفسفرة تدخل فى تفاعلات عديدة مؤدية إلى . تكوين المركب المعروف باسم فوسفو بيروفيك والذى ينفصل منه الفوسفات قبل أن تنتهى العمليات النهائية فى التخمر .

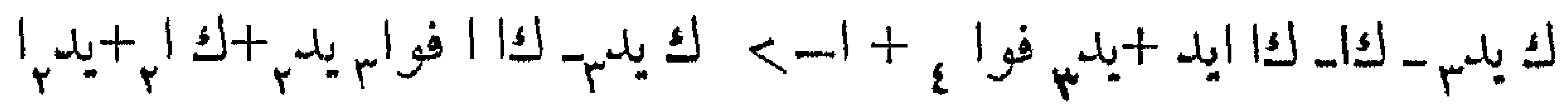
وكما سنبين فيما بعد فإن تخمر الجلوكوز بواسطة خلايا البكتيريا يقتضى نفس التفاعلات الأساسية كالتى تتم خلايا الخميرة. وبوسطة الازالت الخطوات الوسطية من عمليات فسفرة الجلوكوز وكذا الانزيمات المسئولة عن ذلك غير مدروسة بالتفصيل فى حالة الخلايا البكتيرية إلا أنه يحتمل كثيراً أن تكون الخطوة الأولى فى هذه التفاعلات هو انتقال الفوسفات من المركب ادينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) إلى الذرة رقم ٦ من الجلوكوز بواسطة انزيم، الهيكسوكايناز hexokinase كما فى المعادلة التالية :



وكثير من التخمرات الأخرى بواسطة البكتيريات تحدث فقط فى وجود الفوسفات ويكون حدوثها مقروناً بأخذ الخلايا للفوسفات من البيئة . ولم يبحث بعد تفاصيل التغيرات التى تحدث نتيجة لهذه التخمرات ولكن من الصعب تجاهل عمليات الفسفرة فى حالة الأكسدة غير الهوائية للكربوايدرات حيث أن عمليات التخمر الكربوايدراتى تمثل المصدر الرئيسى للطاقة اللازمة للكائنات غير الهوائية . ويبدو فى الحالات التى تم دراستها بالتفصيل ، أن إدماج الفوسفات بالمركبات العضوية على درجات منخفضة من الطاقة وأنفصاله عنها فى الخطوات النهائية لعمليات التخمر من المركبات التى يكون الفوسفات

مرتبطا بها عن طريق روابط غنية بالطاقة تعتبر المصدر الرئيسي للطاقة بالخلايا. وسوف نبين هذه النقطة بشيء من التفصيل عند مناقشة التحولات الأيضيـــة للكربوايدرات .

ويوجد كثير من الأدلة على أن الطاقة المتحصل عليها من عمليات الأكسدة الهوائية المختلفة تنطلق أيضاً من تكوين وتكسير الروابط الفوسفورية الغنية ، بالطاقة. فقد وجد أن أكسدة حمض البيروفيك هوائياً بفعل الأنزيم pyruvic oxidase فى البكتيريا *Lactobacillus delbrukii* يتم فقط فى وجود الفوسفات متضمناً تكوين المركب فوسفات الأسيتيل acetyl phosphate كخطوة مبدئية فى التفاعل كما يلى :



وعمليات الفسفرة يمكنها أن تحدث أيضاً فى كثير من التفاعلات الأخرى غير التخمر أو الأكسدة الهوائية ، والدليل على ذلك المواد المفسفرة العديدة التى يمكن عزلها والتى تمثل مركبات وسطية لتفاعلات أيضية معينة فى خلايا الأنسجة الحيـــة .

الظروف التى تؤثر على تكوين الإنزيمات بالخلايا البكتيرية :

المحتويات الأنزيمية للخلايا الحيوانية تكون ثابتة نسبياً حيث أن طبيعة وضعها فى هذه الخلايا يجعلها أقل عرضة للتغييرات البيئية الشديدة فى حين أن الخلية البكتيرية تكون عرضة لتأثير التغيرات البيئية المستمرة بدرجة واضحة .

فمن الملاحظ أن الكائن البكتيرى الواحد لا يمتلك كل الأنزيمات اللازمة للتفاعل مع كل الظروف البيئية فى وقت واحد ، ولكن المحتويات الأنزيميـــة الحقيقية للخلايا البكتيرية تكون محدودة بدرجة كبيرة بالظروف الخارجية التى تكون سائدة أثناء تكوين كل من محتوياتها الأنزيمية . وبالتالى فإن الخليـــــة التى تنمو فى ظروف هوائية تكون مجهزة بأنزيمات الأكسدة ، فى حين أن

تلك التى تنمو فى ظروف غير هوائية تكون خالية من هذا النوع من الأنزيمات ولكنها تكون مجهزة بالانزيمات الخاصة بالتحولات الأيضية غير الهوائية . من ذلك نرى أن التركيب الأنزيمى الحقيقى للخلية البكتيرية يختلف بدرجة كبيرة إلا أن بعض الاختبارات البيوكيمائية التى تبديها الخلايا البكتيرية تستعمل أحيانا للتعرف على الأجناس والأنواع المختلفة ولكن يشترط أن تجرى مثل هذه الاختبارات تحت ظروف قياسية للنمو حيث يمكن لها فى هذه الظروف أن تمثل المحتويات الحقيقية للكائن البكتيرى المختبر .

إذن فالمحتويات الأنزيمية الحقيقية للخلية البكتيرية هو ذلك الجزء من قدرتها الأنزيمية الفعلية التى توافق العوامل البيئية التى تنمو عليها الخلية . ومن ضمن العوامل (ا) التركيب الكيماوى للبيئة ، (ب) العوامل الفيزيوكيمائية السائدة أثناء النمو (ج) عمر المزرعة البكتيرية .

(ا) التركيب الكيماوى للبيئة

درس كارستروم Karstrom (١٩٤٣) تأثير هذا العامل على تكوين الأنزيمات البكتيرية بالتفصيل ووجد أن قدرة الخلية على تخمير بعض السكريات المعينة تكتسب دائماً إذا سبق وتم النمو فى وجود هذه السكريات . ويبين جدول رقم ١٨ الاختلافات فى القدرة التخمرية للبكتيريا Betacaccus arabinosaceus باختلاف طبيعة السكر الموجود أثناء النمو .

من الملاحظ من الجدول أن البكتيريا تخمر الجلوكوز والسكروز سواء تواجدت هذه السكريات فى البيئة أثناء النمو أم لا ولكن يحدث فقط أن يتخمر كل من الجالاكتوز والمالتوز واللاكتوز والأرابينوز إذا تواجدت كل من هذه السكريات على الترتيب ببيئة النمو . وقد لوحظ أيضا قدرة الخلايا على تخمير الجلوكوز إذا سبق ونميت فى وجود اللاكتوز حيث أن النمو فى وجود السكر الأخير يسمح بتحلل جزيئاته الى جالاكتوز وجلوكوز

جدول ١٨ : علاقة الصفات التخمرية بطبيعة السكر الموجود بالبيئة أثناء نمو البكتيريا *Betacoccus arabinosaceus*

السكر المضاف للبيئة أثناء النمو	قدرة الخلايا الناتجة على تخمير السكريات التالية: جلوكوز	جالاكتوز	سكروز	مالتوز	لاكتوز	أرابينوز
بدون سكريات	+	-	+	-	-	-
جلوكوز....	+	-	+	-	-	-
جالاكتوز....	+	+	+	-	-	-
سكروز....	+	-	+	-	-	-
مالتوز....	+	-	+	+	-	-
لاكتوز....	+	+	+	-	+	-
أرابينوز....	+	-	+	-	-	-

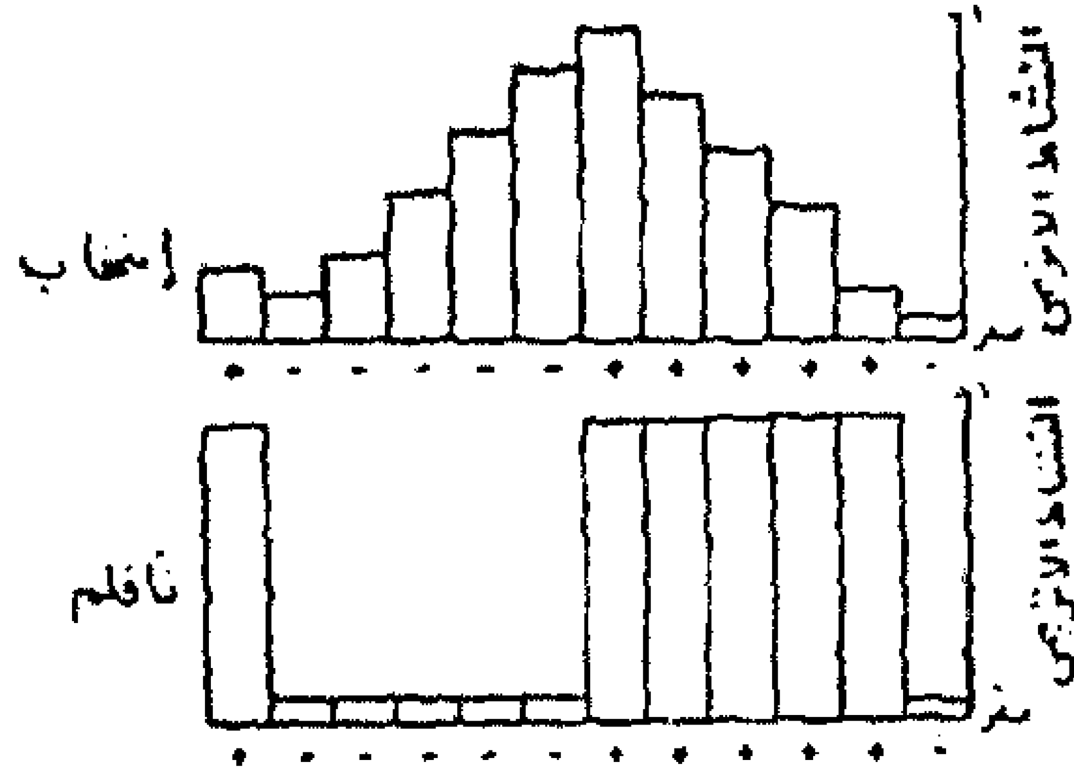
(—) يحدث تخمر (—) لايحدث تخمر

وقد دعا هذا ، كارستروم إلى تقسيم الأنزيمات البكتيرية إلى إنزيمات تطبعية adaptive وأخرى أصلية constitutive . فالنوع الأول من الأنزيمات كما سبق أن بينا يتكون فقط فى وجود مادة تفاعلها التخصصية بمعنى أنها لاتتكون إلا حسب الحاجة . أما النوع الثانى وهو الانزيمات الأصلية فهى تلك التى تتكون فى الخلايا سواء وجدت مادة تفاعلها أو لم توجد ببيئة النمو

والأنزيمات التأقليمية أو التطبيعية تتكون بسرعة فى الخلايا بمعنى أنه اذا أمكن لكائن بكتيرى أن يخمر سكر الجالاكوز تطبيعياً (أى يصبح ذو قدرة على تكوين الأنزيم galactozymase) فيكفى تنمية هذه البكتيريا مرة واحدة فى وجود هذا السكر لكى تصبح قادرة على تكوين هذا الأنزيم . كما أن زرع البكتيريا مرة أخرى فى غياب هذا السكر يكفى أيضاً لضياع هذه القدرة . والفرق بين عملية التطبع وعملية الانتخاب التطفرى يتمثل فى سرعة

تكون الأنزيمات التطبيعية وسرعة ضياع مفعولها كما هومبين فى شكل ٩٩

وأحيانا يكون لوجود بعض المواد الأخرى (غير مادة التفاعل تاثيرعلى درجةتكوين الأنزيم التأقلمى فمثلا قد يكون لوجود الجلوكوز بالبيئةتأثير على تكوين الأنزيمات المحللة للبروتينات والأحماض الأمينيةفعادة يقل نشاط الأنزيم alanine deaminase بدرجة كبيرة بحيث يصبح $\frac{١}{٢٠}$ من نشاطه الفعلى فى غياب الجلوكوز . ولا يعرف للآن أى تفسير لتأثير الجلوكوز المقلل للنشاط الأنزيمى ، غير أن الأحماض العضوية التى تتكون نتيجة لتخمره قد تخفض قيمة pH البيئة ولكن فى بعض الحالات ثبت أن هذا ليس هو الواقع . وتعليل آخر لهذه الظاهرة يتلخص فى أن وجود الجلوكوز أثناء النمو له قدرة على توفير البروتينات (protein sparing action) ، بمعنى أنه يمنع من تحليل البروتينات للحصول على الطاقة اللازمة للخلايا وقد وجد أن الجلوكوز ليس له تأثير على نشاط انزيمات (deaminases) ، فى الخلايا المغسولة وهذا يعنى أن الجلوكوز لايؤثر على الأنزيمات التى تكون قد تكونت فعلا بالخلية الا أن تأثيره يحدث فى منع تكوين انزيمات جديدة ، ويجب أن لا نفهم من ذلك أن وجود الكربوايدرات القابلة للتخمر فى البيئة يمنع دائماً تكوين الأنزيمات . وعموماً يمكن تلخيص وجود مثل هذه المواد على تكوين الأنزيمات فيما يلى :



شكل ٩٩ : رسم تخطيطى يبين الفرق بين عمليتى التأقلم والانتخاب فى تكوين الانزيمات (+ = وجود مادة التفاعل ، – = غياب مادة التفاعل أثناء النمو) .

(أ) تكوين أحماض وحدوث تغيير فى قيمة pH البيئة .

(ب) تكوين غازات محدثة ظروفاً غير هوائية بالبيئة .

(ج) تزيد محصول الخلايا بالمزرعة .

(د) المساعدة فى تكوين عديدات التسكر داخل الخلايا النامية .

(ب) العوامل الفيزيوكيمائية : physiochemical faetıs

أولا — التهوية : إن البكتيريات غير الهوائية اختيارا يمكنها أن تنمو تحت ظروف هوائية وغير هوائية كما يمكنها أن تكون كل محتوياتها الأنزيمية تحت مثل هذه الظروف . وعندما نختبر نشاط كل انزيم بمفرده فاننا نجد أن تلك التى تعمل فى الظروف الهوائية فقط تتكون بالخلايا عندما تنمو هذه تحت ظروف هوائية وأنها لا تتكون إذا حدث النمو فى ظروف غير هوائية والعكس صحيح فيما يختص بالأنزيمات التى تعمل فى ظروف غير هوائية . فمثلا تتكون بخلايا البكتيريا *E. coli* انزيمات مزيلة للمجاميع الأمينية من النوع التأكسدى oxidative بدرجة أكبر (٥ — ٦ مرات) فى الظروف الهوائية عنها فى الظروف غير الهوائية .

ثانيا — درجة pH البيئة : سبق أن ناقشنا تأثير قيمة pH البيئة على نمو البكتيريا . ويهمنا هنا معرفة تأثير هذا العامل على تكوين الأنزيمات البكتيرية فالأنزيمات التى تتكون بالبكتيريا *E. coli* ، التى يمكنها أن تنمو فى مجال من الـpH يقع بين ٢ , ٤ — ٥ , ٩ تعتمد كثيراً على قيمة pH البيئة فى وقت تكون الخلايا . ويختلف تأثير قيمةpH البيئة على تكوين الانزيمات باختلاف نوع الأنزيم .

وتتكون الأنزيمات البكتيرية تبعاً لدرجة pH البيئة بثلاث طرق مختلفة :

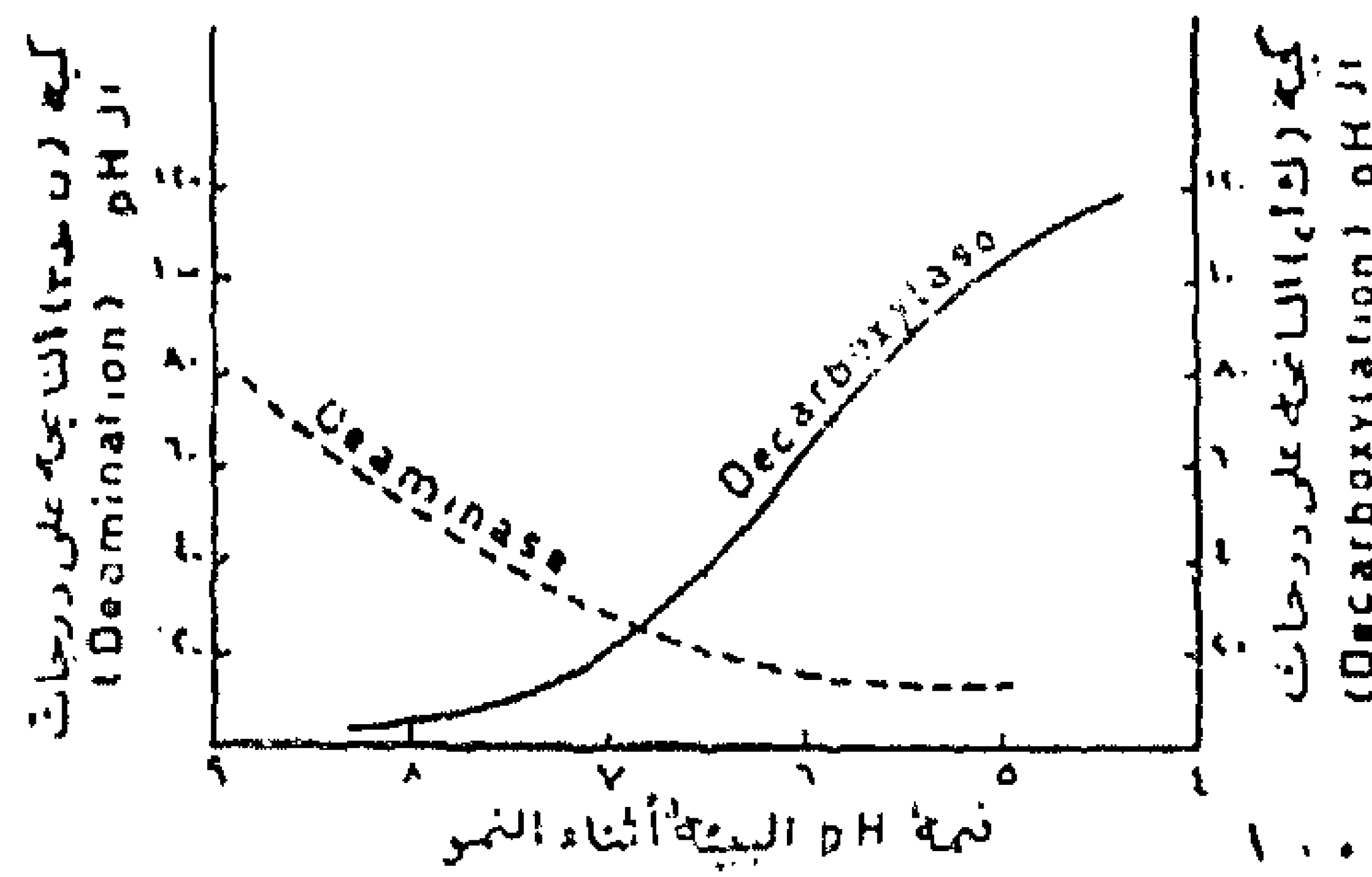
١ — طرق تعادلية : Neutralization mechanism

يمكن للبكتيريا التى تنمو فى مجال متسع من الـ pH انتاج انزيمات ينتج عن تفاعلاتها مواد تعادل الحموضة أو القلوية الزائدة بالبيئة . فالنمو فى بيئة حمضية يشجع تكوين انزيمات تساعد فى تفاعلات ينتج عنها مواد قلوية ، ويمتنع فى هذه الظروف تكون الأنزيمات الأخرى التى تساعد فى التفاعلات

التى ينتج عنها مواد حمضية التأثير . فمثلا ، إذا نميت البكتيريا *E. coli* فى بيئة حمضية التأثير تحتوى على أحماض أمينية فهى تهاجم هذه الأحماض الأمينية عن طريق عملية decarboxylation مؤدية إلى فصل ك أ ٢ وتكوين الأمينات المقابلة القلوية التأثير . أما إذا نميت البكتيريا فى بيئة قلوية فان انزيمات decarboxylases تقف عن التكون وبدلا منها تتكون انزيمات deaminases تهاجم الأحماض الأمينية فاصلة منها مجاميع الأمين فى صورة نشادر ومؤدية إلى تكوين الأحماض الكيتونية الحمضية التأثير .

وهناك كائنات أخرى تكون انزيمات تساعد على تحول أحماض البيئة إلى مواد متعادلة ، عندما تنمو فى بيئات حمضية . فالبكتيريا ***C l.acetobutylicum*** مثلا تختزل حمض البيوتيريك إلى كحول بيوتايل والبكتيريا *Aerobacter aerogenes* والتى تختزل حمض البيروفيك إلى مركب متعادل هو الأسيتيل ميثيل كاربينول .

وفى كل هذه الحالات فان كمية الأنزيم المتكون بداخل الخلايا على الدرجات المختلفة من الـ pH تبين أن هناك علاقة بين حدوث التفاعلات التعادلية وقيمة pH البيئية . ويبين (شكل ١٠٠) هذه العلاقة فى حالة الأنزيمات المحللة للحمض الأمينى جلوتاميك .

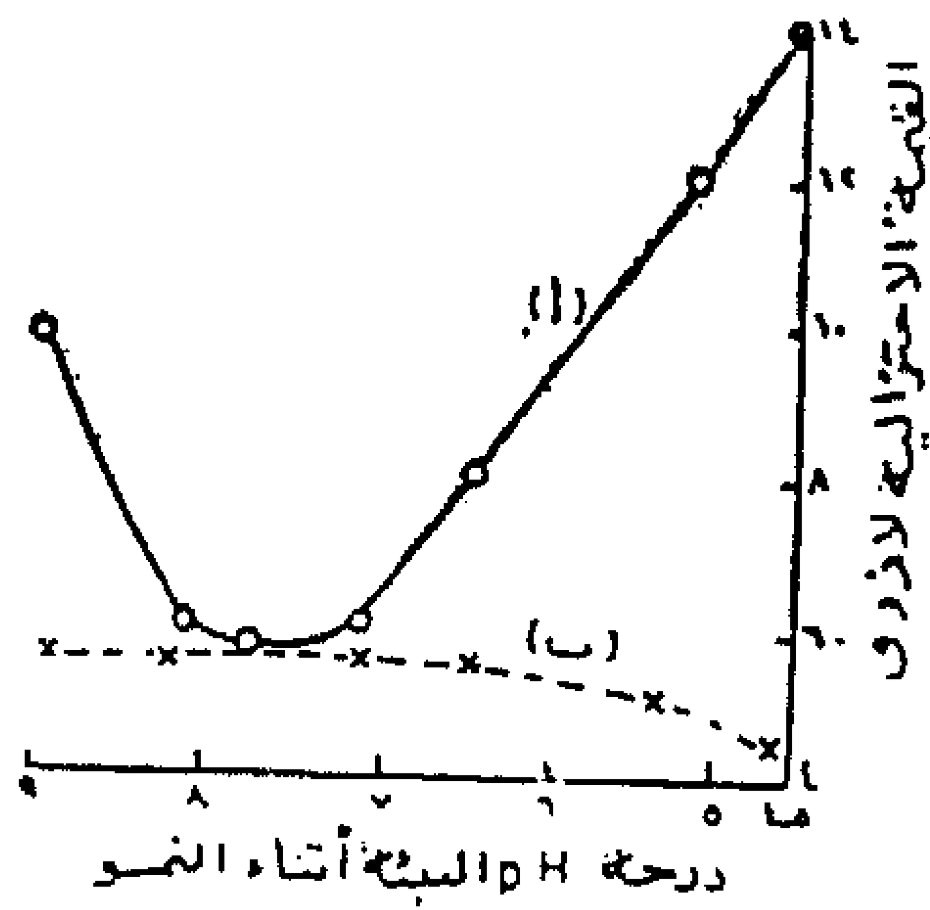


شكل ١٠٠ : الاختلافات فى تكوين انزيمات glutamic decarboxylase و glutamic dehydrogenases فى البكتيريا *E. coli* باختلاف pH البيئة أثناء النمو .

٢ — طريقة وقائية : protective mechanism

ان وظيفة بعض الأنزيمات مثل انزيم الكاتاليز هو تحويل المواد الأيضية السامة التى لو تركت تتكدس بالخلايا تؤدى إلى تسممها .

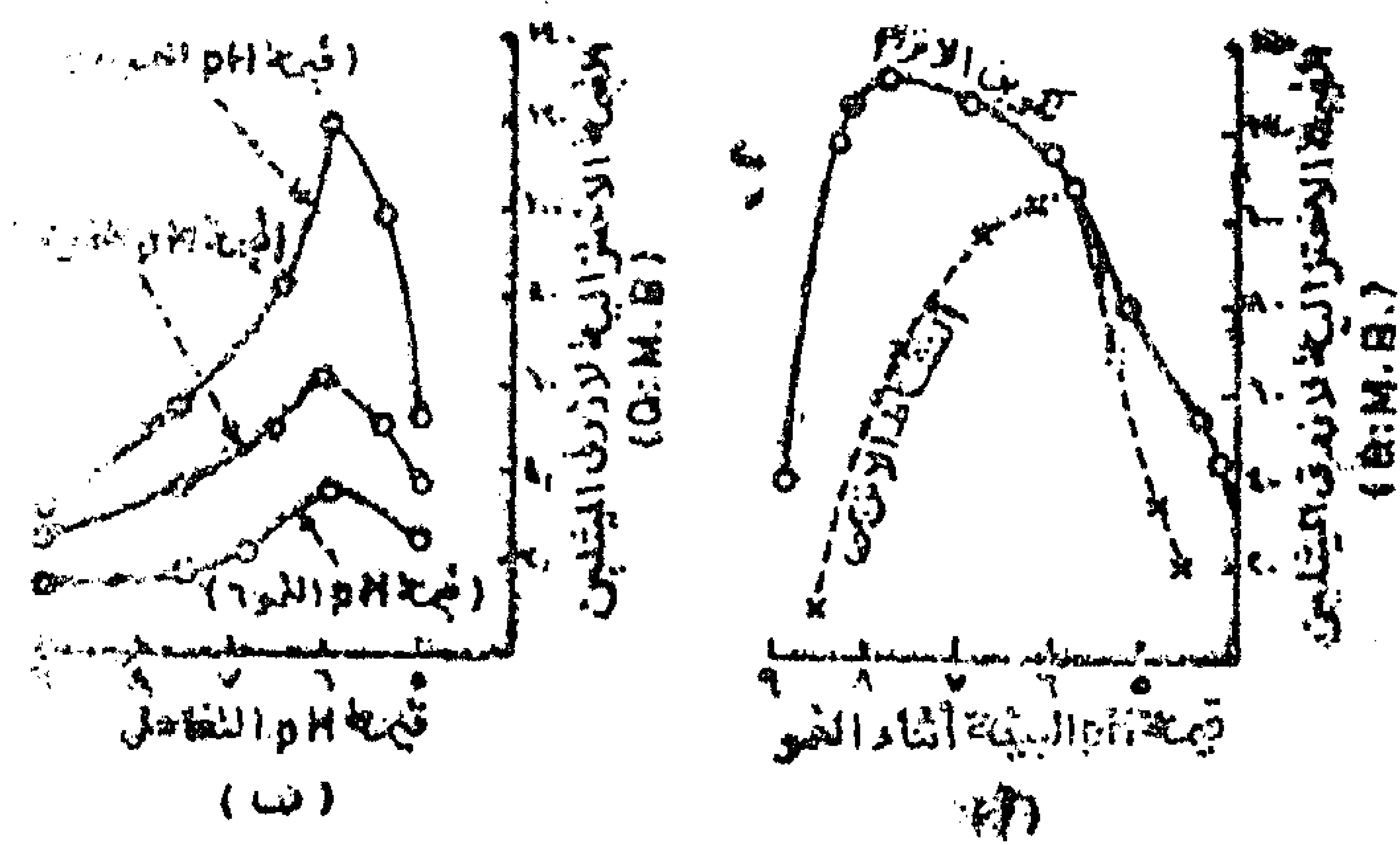
ومن المعروف أن لكل انزيم قيمة pH مثاليه يكون نشاطه عليها أكبر مايمكن وأن pH البيئة يتغير بحيث يبتعد عن قيمة الـ pH المثالية لنشاط الأنزيم فيقل بذلك نشاط كل وحدة انزيمية . ففى حالة انزيم الكاتاليز والذى لـه درجة مثالية من الـ pH=٥, ٦ ، فان وحدات هذا الأنزيم تكون أقل نشاطا عندما يتم النمو على درجة pH ٩ عنه فى حالة pH ٥ , ٦ ، ففى هذه الأحوال تعوض الخلية النقص فى نشاط وحدة الأنزيم بانتاج وحدات أنزيمية كثيرة حتى يكون النشاط الفعلى للانزيم ثابتاً بالخلية حتى على درجات الـpH غير المثالية (النشاط الفعلى = عدد وحدات الأنزيم نشاط كل وحدة) ، والأنزيمات التى يتأثر تكوينها بقيمة pHالبيئة عن هذا الطريق تشمل اليورياز urease والكاتاليز catalase وكل من formic dehydrogenass'alcohol dehydrogenase وهى إنزيمات ذات مواد تفاعل سامة للخلايا . ويبين (شكل ١٠١) الاختلافات



شكل ١٠١ : الاختلافات فى نشاط الأنزيم alcohol dehydrogenase فى البكتيريا *E. coli* باختلاف قيمة pHالبيئة أثناء النمو . (أ)النشاط الكامن للانزيم potential activity ،(ب) النشاط الفعلى للانزيم effective activity يلاحظ ثبات هذا النشاط على درجات الـ pH المختلفة .

فى تكـوين انـزيم alcohol dehydrogenase فى البكـتريا *E.coli* على الدرجات المختلفة من الـ pH . والنشاط الكامن potenial activity للانزيم هو ذلك النشاط الذى يقدر على درجات الـ pH المثالية « ٨ » ويمثل درجة التكوين الكلى للانزيم داخل الخلية . أما النشاط الفعـال effective activity فهو ذلك النشاط الذى يقدر على درجة الـ pH الذى كانت الخلايا نامية عليها قبل القيام بالتقدير .

ثالثا — هناك مجموعة من الأنزيمات تتكون بالخلايا البكتيرية بكمية كبيرة عندم يتم النمو على درجة من الـ pH تقارب تلك المثالية لنشاطها . وعلى حد معلوماتنا فانه ليس هناك انزيم بكتيرى واحد لايتأثر تكوينه بدرجة pH البيئة أثناء نمو الخلايا . والانزيمات التى تتبع هذه المجموعة لها وظائف غير إجراء التعادل أو الوقاية فهى تتكون بدرجة ملحوظة فى نطاق محدود من قيمة الـ pH على جانبى درجة الـ pH المثالية لنشاطها . وفى هذه الحالة لايشترط أن تكون قيمة الـ pH التى تتكون عندها أكبر كمية من الأنزيم هى نفس الدرجة المثالية للنشاط الأنزيمى كما يظهر ذلك واضحاً من المثال الخاص بانزيمات hydrogenases بالبكتيريا *E.coli* والمبين بشكل ١٠٢ .



شكل ١٠٢ : ا — الاختلافات فى نشاط الانزيم hydrogenase فى البكتيريا *E. coli* على درجات مختلفة من pH البيئة أثناء النمو .
ب — الاختلافات فى نشاط الانزيم باختلاف قيمة pH الاختبار .

من الملاحظ فى (شكل ١٠٢ — ا) أن درجة الـ pH المثالية لنشاط الأنزيم هى « ٦ » ، فى حين أن الدرجة اللازمة لتكوين أقصى كمية من الأنزيم هى pH « ٨ » . وبتقدير قيمة النشاط الفعال للانزيم على درجتى pH النمو « ٦ و ٨ » يتبين أن أكبر كمية من وحدات الأنزيم والتى تتكون فى هذا

النطاق (٦ — ٨) تعوض النقص فى نشاط الوحدات الأنزيمية الذى يحدث فى حدود هذا النطاق من الـ pH أيضاً . ونتيجة لذلك فان النشاط الفعال للانزيم يكون ثابتاً تقريباً فى منتصف منحنى النمو ولكنه ينحدر بسرعة خارج هذه الحدود . وفى خارج هذه الحدود تقل عملية التعويض فى قلة النشاط بتكوين وحدات إنزيمية التى تتبع هذه المجموعة إنزيمات tryptophanase و hydrogenases و succinic dehydrogenase و glucozymase .

درجة حرارة النمو :

إن درجة الحرارة المثالية للنمو لا تعنى أنها هى نفس الدرجة المثالية للتحولات الأيضية البكتيرية . ففى الحقيقة لا يمكن لكائنات التربة أن تنمى على درجة حرارة ٣٧° م والتى توافق نمو الطفيليات الحيوانية . وقد أجريت عدة دراسات على تأثير درجة الحرارة على تكوين الأنزيمات فوجد أن كثير من الأنزيمات مثل amino acid decarboxylases تتكون بالبكتيريا *E. coli* بدرجة كبيرة على درجة حرارة ٢٠° م وليس على درجة ٣٧° م (الدرجة المثالية لنمو *E. coli*) . وقد بين كثير من العلماء أن تخليق البروتينات الخلوية يتم بدرجة أكبر على الدرجات المنخفضة نسبياً من الحرارة

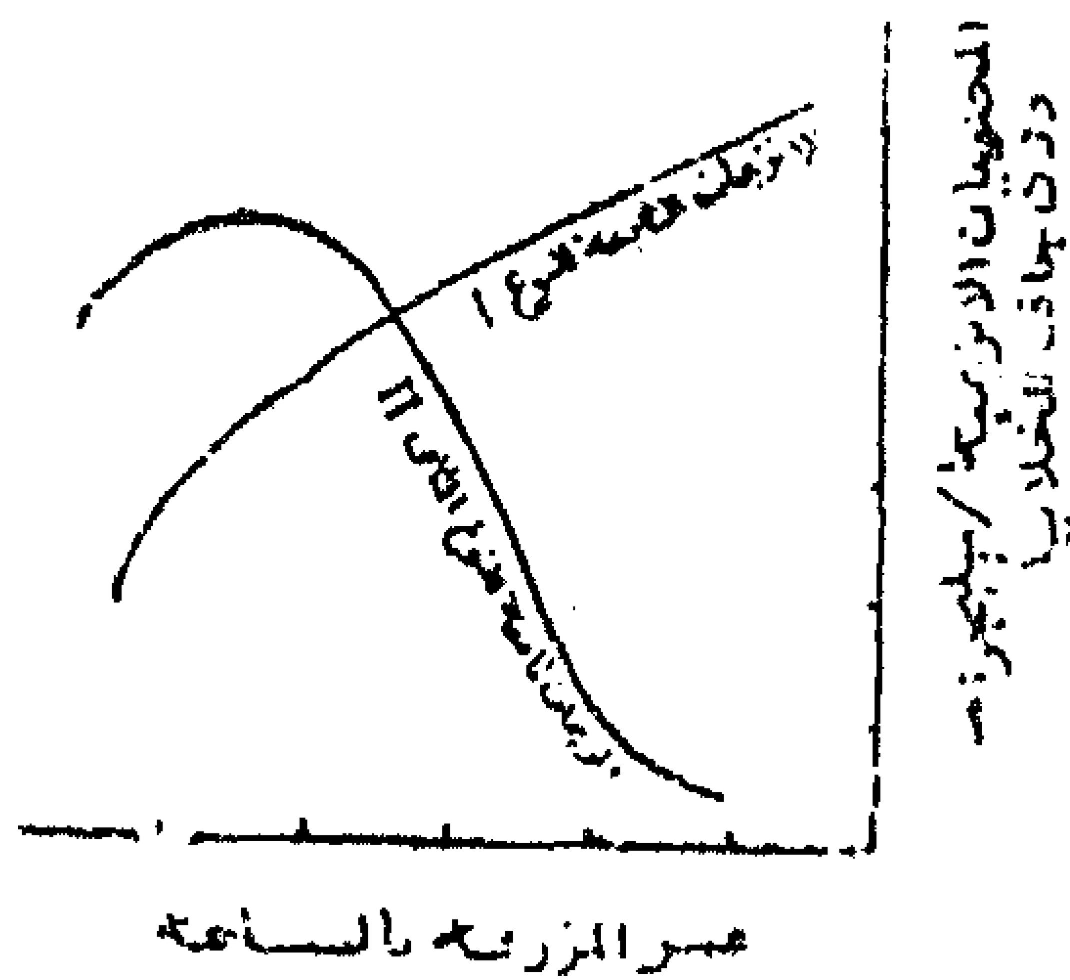
عمر المزرعة :

سبق أن ذكرنا أن النشاط الانزيمى للخلايا يزداد وهى فى أطوارها الأولى من النمو . وحيث أن الخلايا تكون أكبر حجماً أثناء هذه الأطوار عنها فى أطوار النمو المتأخرة فهذا يعنى أنها تحتوى على كمية أكبر من البروتوبلازم وبالتالى تحتوى على كمية أكبر من الأنزيمات . ويمكننا تتبع تكوين الأنزيمات بالخلايا إذا ماتتبعنا الزيادة فى المحتويات الخلوية ، وليس عن طريق تقدير عدد الخلايا ، وقد سبق أن ذكرنا أنه يمكن قياس الكتلة الخلوية بجملة طرق وهذه تكون دائماً متلازمة مع النشاط الأنزيمى الخلوى . ومن هذه التقديرات أمكن

التعرف على اختلاف المحتويات الأنزيمية باختلاف عمر الخلايا . وحيث أن الظروف الفيزيائية والكيمائية تتغير أثناء نمو الخلايا البكتيرية فى المزرعة نتيجة للنشاط الحلوى الأيضى ، من ذلك يمكننا أن نتفهم لماذا يتأثر التكوين الأنزيمى فى مراحل النمو المختلفة . فإذا ماقدرت المحتويات الأنزيمية لمزرعة بكتيرية على أساس الوزن الجاف للخلايا (وحدات انزيمية / ملليجرام واحد من الوزن الجاف) فإننا نجد نوعين من الاختلافات فى المحتويات الأنزيمية نتيجة لعمر المزرعة :

١ ــ تكون الخلايا ذات نشاط إنزيمى مرتفع فى الفترات الأولى من النمو (شكل١٠٣ــ I) ثم يتناقص هذا النشاط باستمرار النمو ثم ينخفض فجأة بعد حدوث الانقسام الخلوى .

٢ ــ تكون المزارع فى الفترات الأولى من النمو أقل نشاطاً انزيمياً وأحيانا معدومة النشاط الإنزيمى . ثم يزداد النشاط تدريجياً حتى يصل قمته عندما تتوقف الخلايا عن الانقسام . وعند نهاية النمو ينخفض النشاط الأنزيمى كلية نتيجة لموت الخلايا أو أكسدة أو هضم البروتين الإنزيمى . ومعظم الأنزيمات البكتيرية التى درست إلى الآن تظهر اختلافات مثل تلك المبينة بالمجموعة الثانية (شكل١٠٣ــII) باختلاف عمر المزرعة . ومن هذه الأنزيمات : decarboxyolases و deaminases و dehydrogenases و proteases



شكل ١٠٣ : اختلاف المحتويات الانزيمية للخلايا بالبكتيريا *E. coli* باختلاف عمر المزرعة (I) مجموعة انزيمات البناء (II) مجموعة الانزيمات المرتبطة بعمليات الهدم .

والتى تختص بهدم مواد تفاعلها وإطلاق كربون أو نيتروجين أو طاقة ويبدو أن هذه الأنزيمات (أو الأنزيمات التابعة لهذه المجموعة) ليست مرتبطة بعمليات

البناء أو التخليق . وهذا يعنى احتمال أن الانزيمات التى تتأثر بهذه الكيفية تبعا لعمر المزرعة هى تلك الخاصة بالعمليات الهدمية أو الوقائية فإذا كانت الاختلافات فى المحتويات الأنزيمية الهدمية تتبع النظام المبين (بشكل ١٠٣ —II) تبعـا لعمر المزرعة ، فيمكننا أن نفترض أن تلك الانزيمات البنائيـة anabolic enzymes تختلف باختلاف عمر المزرعة بالطريقة المبينة (شكل ١٠٣ —I) والمعلومات الحالية لازالت قاصرة عن إثبات هذا التعميم . ففى البكتيريا Streptococci نلاحظ اختلافات فى المحتويات الأنزيمية تتبع كل من النظامين II ، I تبعاً لعمر المزرعة ، حيث تتبع الانزيمات المسئولة عن تخمر الجلوكوز تتبع النظام رقم I وأنزيمات decarboxylases تتبع النظام رقم II .

وعندما يتأثر تكوين الانزيمات الخلوية بدرجة pH البيئة فإن الاختلافات الناتجة يمكن تغييرها فى هذه الحالة بإضافة السكريات القابلة للتخمر . بمعنى أنه إذا كانت درجة تكون نظاماً انزيمياً معيناً بالخلية تصل إلى أقصاها عندمـا تكون قيمة الـpH البيئة مقاربة لتلك الخاصة بأقصى نشاط له ، فيمكن إذن الحصول على منحنى مثل ذلك المبين (بشكل ١٠٣ —II) تبعاً لتغير عمر المزرعة ولكننا نجد أن نشاط هذا الأنزيم يتناقص فيما بعد قرب نهاية دورة النمو حيث يصبح تفاعل البيئة مائلا إلى الحموضة نتيجة لوجود السكريات المتخمرة .

ومثل هذه التغيرات هامة جداً فى دراسة التحولات الأيضية البكتيرية فمثلا نجد أن الميكروب *Cl. acetobutylicum* والذى يحتوى على انزيم hydrogenase و acetoacetic decarboxylase فإن كلا النظامين يظهران اختلافات تتمشى مع المنحنى رقم II (شكل ١٠٣) عند تغيير عمر المزرعة فإذا مادرسنا نشاط كل من هذه الأنزيمات باستعمال معلقات الخلايا المغسولة المتحصل عليها فى فترات مختلفة أثناء النمو يمكننا أن نلاحظ مايأتى :

(١) الخلايا المتحصل عليها فى أوائل فترات النمو لاتظهر نشاطاً لأى من الأنزيمين .

(ب) الخلايا المتحصل عليها أثناء طور النمو اللوغاريتمى تبدى نشاطاً ملحوظاً لأنزيم dehydrogenase فقط .

(جـ) الخلايا المتحصل عليها فى الفترات الأخيرة من النمو عندما يبـــدأ توقف الانقسام تمتلك نشاطاً مرتفعاً لأنزيمات decrboxylases بينما ينعدم بها نشاط dehydrogenase .

وهذه الاختلافات فى أوقات تكوين الأنزيمات يمكن ربطها بالحقيقة المعروفة أن الدرجة من الـ pH المثالية لنشاط hydrogenase هى «٨» فى حين أن تلك الخاصة بالـ decarboxylase يصل إلى «٥» وأن pH البيئـة ينخفض من ٧ — ٤,٥ أثناء النمو .

والاختلافات فى المحتويات الأنزيمية الخلوية تقتضى إختلافات فى تركيب البروتينات وهذا يرجع إلى درجة تنظيم الأحماض الأمينية داخل الجزىء البروتينى من الانزيم بدرجة أكبر من نسبة هذه الأحماض الأمينية إلى بعضها فى ذلك الجزىء . وقد أمكن التعرف على الاختلاف فى المحتويات الخلويـــة باستعمال الأشعـة فوق البنفسجيـــة u . v. spectroscopy وتقدير قدرة الخلايا على امتصاصها فى أطوار نموها المختلفة . وأمكن التعرف على تغيرات رئيسية داخل الخلايا أثناء النمو . فلما هو معروف عن أن المواد المحتوية على البيورينات purines والبـايرميدينات pyrimidines مثـــل nucleotides أو الأحماض النووية تمتص هذه الأشعة (ذات موجة طولها ٢٦٥ ميللى ميكرون) بدرجة كبيرة فقد وجد أن محتويات الخلايا من هذه المواد تختلف باختلاف عمر الخلايا حيث أن الخلايا الكبيرة فى السن تكون غنية بها كما سبق أن ذكرنا .

المـــراجع

Gale, E. F . 1952 The chemical actevities of bacteria.Academic press N. Y. University Tutorial Press Ltd . London .

Gale, E. F. 1943 . Factor influencing the enzyme activivties of bacteria. Bacteriol. 7 : 139.

Karstrom, H 1938. Enzymatische asaptation bei microorganismen. Ergebnisse de Enzym forschung, 7 : 340.

Sumner, J. B. and K. Myrback, 1952. The enzymes. Academic Press, New York.

الفصل الثانى

تفاعلات إزالة الأيدروجين — والتنفس

Dehydrogenation and Respiration

تبين لنا عند مناقشة الأنزيمات البكتيرية ان الخلايا تقوم بعمليات كيماوية معقدة بمساعدة الانزيمات . وذكرنا أن الخلايا تستفيد من الطاقة التى تنشأ عن هذه التفاعلات فى أغراضها الحيوية المختلفة. وهناك مجموعةمعينة من التفاعلات تحدث بصفة عامة فى كل الخلايا الحية والتى تستحق المناقشة فى فصل مستقل من هذا الباب .

وهذه التفاعلات تشترك فى إزالة الأيدروجين من عديد من المواد وتحوله إلى ماء . والماء كما هو معروف هو ذلك السائل الذى ترتكز عليه الحياة والذى جعل الله سبحانه وتعالى منه كل شيء حى ، يستحق أيضاً اهتمامنا لما له من الأهمية فى هذه التفاعلات . فالأيدروجين المرتبط بكثير من المواد وكذلك الأيدروجين الغازى يمكنه أن يتأكسد متحولا إلى ماء ، وهذا التفاعل يستمر حيث تنطلق عنه طاقة تستغلها الكائنات الحية باستمرار طالما كانت على قيد الحياة . وقد كان علماء الفسيولوجيا القدامى على حق فى قولهم أن الحياة تدور على لهب من الأيدروجين .

ويطلق على عملية «احتراق» الأيدروجين هذه وتحوله إلى ماء اسم عملية التأكسد oxidation وهى فعلا عملية أكسدة ولكن الأكسجين فى حد ذاته يكون ذو أهمية ثانوية فى العملية . ويشار إلى هذه العملية أحياناً بأنها عملية إزالة ايدروجين dehydrogenation وأحياناً أخرى بأنها عملية أكسدة oxidation فعملية إزالة الايدروجين dehydrogenation تعنى إما إزالة الايدروجين (٢يد) كما يبدو من مدلول تسميتها أو إزالة ايدروجين على صورة ايونية (يد+) علاوة على الالكترونات وهذا بدوره يعنى عملية أكسدة.

وحيث أن المادة التى فصل منها الايدروجين تقل محتوياتها من الأيدروجين وبالتالى سوف تزداد محتوياتها النسبية من الأكسجين عما كانت عليه من قبل فيقال أنها تأكسدت .

من ذلك نرى وكما سبق أن بينا أن الأكسدة تعنى الأكسجين أو فقد للايدروجين أو فقد للالكترونات كما يتبين أن التسميات المختلفة والمتعددة لهذه العملية يمكنها أن تحدث ارتباك فى تفهمها .

نعود مرة ثانية إلى العملية الأساسية وهى تحول الأيدروجين إلى ماء والذى يعتبر الناتج النهائى للتفاعل ، فقد أمكن تحويل الأيدروجين الغازى إلى ماء بالمعمل بحرقة فى وجود الأكسجين ، كما أمكن قياس وتقدير كمية الطاقة التى تنتج عند تكون جزىء واحد من الماء . ويمكن أيضاً للايدروجين أن يتحول إلى مركبات عضوية أخرى وهذا التحول أيضاً ينطلق عنه طاقة ولكن بكمية أقل من تلك التى تنتج عند تكوين الماء . هذا والأيدروجين المرتبط بالمواد العضوية يمكن تحوله هو الآخر إلى ماء وينتج عن ذلك طاقة إلا أنها تكــــون أقل بكثير من تلك الناتجة عند تكوين ماء أو نتيجة لتفاعل الايدروجين الغازى والايدروجين المرتبط بالمواد العضوية قد ينتقل أيضاً من مركب عضوى إلى آخر وهذا الانتقال قد يسفر عنه هو الآخر إنتاج طاقة .

فعندما يكون الأيدروجين مرتبطاً بالمواد العضوية يطلق على العملية اسم dehydrogenation . ولما كان الهدف النهائى هو تحويل الايدروجين إلى ماء فإن كل مايمكن انطلاقه من طاقة يتكون بمجرد تكون الماء ولايشترط أن ينتقل الايدروجين كل هذه الانتقالات دفعة واحدة ليكون ماء أو لاطلاق الطاقة ، فقد يستمر فى انتقاله لمسافة قصيرة وينطلق عن ذلك بعض الطاقة ، وربما ينتقل فيما بعد مسافة أخرى ثم أخرى إلى أن يتكون الماء . ولماكان الايدروجين المرتبط عضوياً يمكن تحوله من صورة عضوية إلى أخرى تكون قريبة إلى حد مالطريقة ارتباطه فى جزيئات الماء فإنه يمكن أن تنطلق طاقــة

أيضاً نتيجة لهذه العملية dehydrogenation بالرغم من عدم تكون الماء. ومثل هذه التفاعلات تتطلب وجود مادة عضوية يمكنها أن تعطى ايدروجينها المرتبط hydrogen donor إلى مادة عضوية أخرى تعتبر مستقبلة للايدروجين hydrogen acceptor وعن هذا الطريق يمكننا أن نتفهم كيفية استمرار الحياة لبعض الكائنات، بالرغم من غياب الأكسجين .

التنفس كوسيلة للوصول الى الأكسجين الغازى :

كثير من الكائنات الحية يكون مجهزاً بالنظم الأنزيمية التى ينتقل عـــن طريقها الايدروجين ويوصل إلى الأكسجين الغازى . وفى هذه العملية والتى يطلق عليها عملية التنفس فإن الأكسجين الغازى يعمل إذن كمستقبل وحيـــد للايدروجين . وهناك تعريفان لعملية التنفس هذه : الأول كما سبق أن بينا ينص على أن وظيفة الأكسجين هى استقبال الايدروجين وأن هذا التفاعـــل ينطلق عنه طاقة فى صورة صالحة للخلايا . والتعريف الثانى ينص على أن أى تفاعل ينطلق عنه طاقة بالخلية يعتبر عملية تنفس سواء تم ذلك فى ظروف . هوائية أم غير هوائية . وسوف نركز دراستنا هنا لعملية التنفس البكتيرى على التعريف الأول لما قد يسببه التعريف الثانى من تعقيدات نتيجة لوجود بعض التسميات المتعددة والمتداولة كالتنفس الهوائى أو التنفس غير الهوائى .

وبالرغم من أن عملية انتقال الايدروجين إلى الأكسجين لاتختلف فى المبدأ الأساسى عن انتقاله إلى المواد الأخرى القابلة للاختزال إلا أن **الاختلاف** فى ميكانيكية الانتقال فى كلتا العمليتين تفى بأن تميز عملية التنفس فى حد ذاتها .

وسوف نتناول بالمناقشة فيما يلى الطرق المختلفة للوصول إلى الأكسجين. من المعروف أن الخلية تحتوى على عديد من الأنزيمات القادرة على إزالــــــة الايدروجين على صورة (٢يد) من مواد تكون محتوية عليه ، إلا أن الايدروجين المنفصل لايتفاعل مع جزيئات الأكسجين الغازى المتواجد بالجو المحيـــط مباشرة بل يتطلب وجود مجموعة من الأنزيمات الأخرى ومرافقاتها الأنزيمية

تقوم بتوصيل الايدروجين (٢يد) إلى الأكسجين الغازى ($أ_٢$). ويعرف لذلك ثلاث طرق رئيسية وهى كما يلى :

(ا) طريق الأكسدة المباشرة : Direct oxidation

هناك مجموعة من الأنزيمات المزيلة للايدروجين dehydrgenases تتواجد بكثرة فى الأنسجة الحيوانية وخلايا الخميرة يطلق عليها انزيمات الأكسدة ، مثل D or L-amino acid oxidases تكون ذات تركيب خاص يسمح بحدوث تفاعل بين الايدروجين المنفصل والأكسجين الغازى مباشرة . وعادة ينتج فوق أكسيد الايدروجين يد$_٢$أ$_٢$ (بدلا من الماء) نتيجة لحدوث مثل هذا التفاعل كما أن قدرة الخلايا على استعمال الطاقة الناتجة عن مثل هذه التفاعلات لازالت من الأمور المشكوك فيها .

معظم الأنزيمات التى تقوم بعمليات الأكسدة المباشرة تحتوى على ريبوفلافين prosthetic group فى صورة مرتبطة بالبروتين الأنزيمى، والقليل منها تحتوى على حديد أو نحاس . والتفاعل المبين (بشكل ١٠٤ — ا) يبين كيفية حدوث مثل هذه التفاعلات . وقد يتواجد هذاالنظام فى بعض الكائنات دون الأخرى ويقال أن الميكروب *Proteus vulgaris* يحتوى على هذا النوع من الأنزيمات ولكن لايتكون (يد$_٢$أ$_٢$) كناتج تفاعل . وعموماً فإن فعل هذه الأنزيمات مقصوراً على بعض مواد التفاعل المعينة ولاتزال أهميتها من الناحية التنفسية للخلايا المحتوية عليها من الأمور المشكوك فيها بالرغم من أهميتها فى تجهيز بعض المركبات الوسطية التى قد تحتاجها الخلايا .

ومادة (يد$_٢$أ$_٢$) التى تتكون تعتبر سامة جداً للخلايا الحية لذلك فتمتلك كثير من الكائنات انزيما معيناً يعرف باسم الكاتاليز catalase الذى يحتوى على مركب الهياتين . يمكنه هدم (يد$_٢$أ$_٢$) محولا إياه إلى ماء مع إطلاق الأكسجين الغازى .

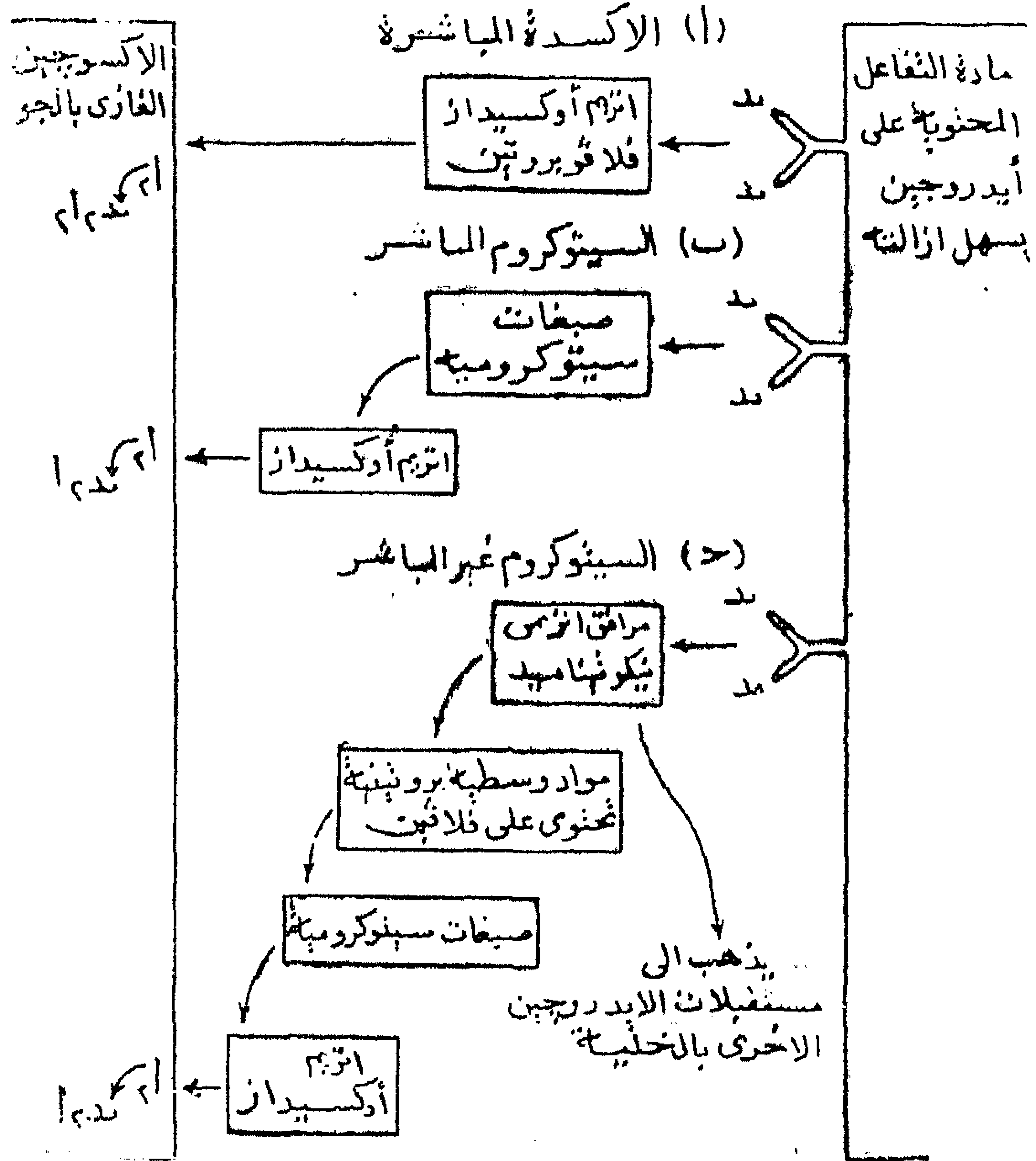
كاتاليز

٢ يد$_٢$ ا$_٢$ ——← ٢ يد$_٢$ ا$_٢$

وقد وجد حديثاً أن هذا المركب (يد$_٢$ ا$_٢$) يمكنه أن يعمل فى أكسدة بعض المواد الخلوية حيث يزول تأثيره السام من الخلايا فقد وجد أن pneumococci يمكنها أن تحمى نفسها فى وجود الهواء نتيجة لحدوث التفاعل بين (يد$_٢$ا$_٢$) وحمض البيروفيك بطريقة ماتخلص الخلايا تبعا لهذا من تأثير (يد$_٢$ا$_٢$) السام .

(ب) طريق السيتوكروم المباشر : Direct cytochromes system

يوجد عدد قليل من انزيمات إزالة الايدروجين مثل انزيم succinic dehydrogenase



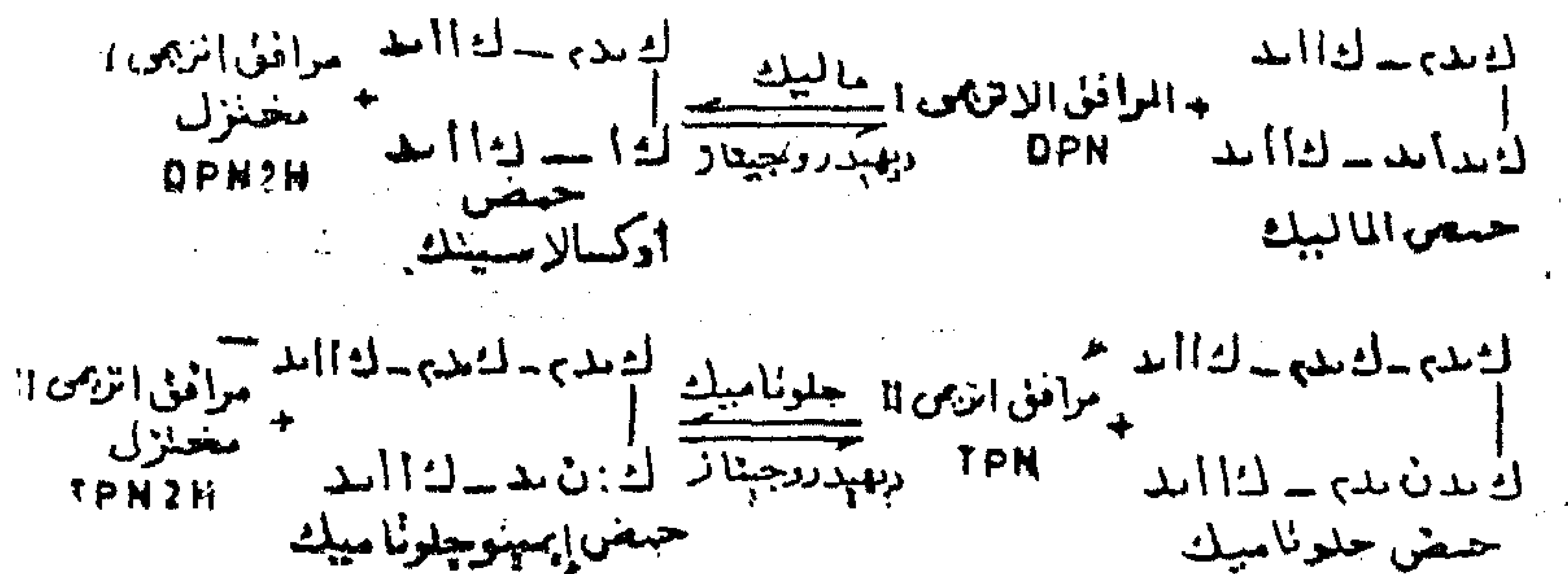
شكل ١٠٤ : الطرق الموصلة إلى الاكسجين الجوى .

يمكنها أن تختزل مجموعة من صبغات السيتوكروم مباشرة وهذه الصبغات المختزلة تتفاعل بدورها مع الأكسجين الغازى مكونةماء. وهذا النوع من التفاعلات يمثل الطريق الوحيد للوصول إلى الأكسجين فى بعض الخلايا إلا أن له أهمية محدودة من حيث إنتاج الطاقة إذا ماقورن بالطرق السيتوكرومية غير المباشرة . ويبين (شكل ١٠٤ ب) كيفية حدوث هذه التفاعلات كما سنذكر فيما بعد أهميتها الفسيولوجية .

(ج) طريق السيتوكروم غير المباشر : Indirect cytochrome system

يعتبر هذا الطريق أهم طرق الوصول إلى الأكسجين من الناحية الكمية فى إنتاج الطاقة فكثير من انزيمات إزالة الايدروجين تختزل المرافقات الأنزيمية مثل (DPN أو TPN) . وهذه المرافقات وهى فى حالتها المختزلة لايمكنها التفاعل مع الأكسجين الجزيئى كما لايمكنها التفاعل مع صبغات السيتوكروم. إلا أنها تكون قادرة على اختزال بعض البروتينات المحتوية على الفلافين flavine والتى تعرف باسم cytochrome reductase فى حالة المرافق الأنزيمى I (DPN) أو باسم diaphorase فى حالة المرافق الأنزيمى II (TPN) .وهذه تكون قادرة على التفاعل مع صبغات السيتوكروم والتى تقوم بدورها إلى الوصول للاكسجين . وعمليات الأكسدة التى تتم عن هذا الطريق مبينة (بشكل ١٠٤ ج) .

ومثل هذه الطرق التأكسدية تتواجد بالبكتريا حيث أمكن الحصول على التفاعلات التالية بالاستعانة بمستخلصات خلايا البكتريا *E.coli*



وبالاستعانة بالسموم التنفسية respiratory poisons مثل السيانيد أو أول أكسيد الكربون تبين أن الخطوة الأخيرة من سلسلة التفاعلات التنفسية تعتمد على انزيم هو عبارة عن صبغة تنفسية تحتوى جزيئاتها على معدن ثقيل heavy metal pigment وهى التى يتحد بها السيانيد أو أول أكسيد الكربون ويطلق على هذه الصبغة التنفسية اسم cytochrome oxidase وقد أدى اكتشاف هذه الصبغة إلى معرفة أن الأكسجين الغازى يتفاعل مع الصورة المختزلة منها ferrous cytochrome oxidase ليكون مركب يحتوى على الأكسجين ويشبه كثيرا المركب المعروف باسم أوكسى هيموجلوبين oxyhaemoglobin وأمكن التيقن من تكون ذلك لما له من القدرة على الاتحاد مع (ك ا) شأنه شأن الهيموجلوبين . وعندما تحدث التفاعل بين cytochrome oxidase المختزل وبين الأكسجين بتأكسد الحديد المحتوية عليه من صورة الحديدوز إلى الحديديك . وبذلك ينتهى دور الأكسجين فى عملية التنفس . إلا أن اتحاده مع الايدروجين الحاوى وتكوين ماء يعتبر أيضاً من التفاعلات الحيوية الهامة .

وأنزيمات cytochrome oxidases لاتتأثر بضغط الأكسجين المرتفع ولكن الضغط المنخفض جداً (٠٥, ضغط جوى) يعتبر من العوامل المحددة لنشاطها . إذن فالضغط الأكسجينى (٢, ضغط جوى) يكون مناسباً لنشاطها إذا كان له القدرة على الدخول إلى الخلايـــا .

وانزيمات cytochrome oxidase لخلايا البكتيريا تبدو مختلفة عن تلك الخاصة بالخلايا الحيوانية كما أنها تختلف أيضاً باختلاف النوع البكتيرى . إلا أن معظم انزيمات cytochrome oxidase البكتيرية فيما عدا بعض الحالات الفردية تشبه تلك الخاصة بالأنسجة الحيوانية فقط فى قدرتها عـــلى الاتحاد مع أول أكسيد الكربون وفى أن هذه القدرة الارتباطية يمكنها أن تنعكس عند التعرض للضوء المرئى .

وقدرة الضوء على عكس التأثير الموقف لانزيمات الأكسدة السيتوكرومية فى وجود أول أكسيد الكربون ، قد مكنت من تحديد الموجات الضوئية التى تمتصها هذه الأنزيمات أو المركب المعقد الناتج بدرجة أكبر من غيرها absorption spectrum.

سبق ذكر أن الميتوكوندريا الحيوانية والبكتيرية تحتوى على كل مقومات الخلية من انزيمات الأكسدة ، لذلك فان انزيمات الأكسدة السيتوكرومية تتركز فى الميتوكوندريا البكتيرية .

وأنزيمات الأكسدة السيتوكرومية المحتوية على حديد فى صورة حديديك والناتجة عن التفاعل مع الأكسجين يمكنها أن تستقبل الكترونات من مجموعة من الصبغات المحتوية على haemation والتى تعرف بصبغات السيتوكروم cytochrome pigments ويعرف إلى الآن ثلاث صبغات سيتوكرومية هى (أ ، ب ، ج) ، أمكن فقط الحصول على الصبغة (ج) منها فى حالة نقية ، كما وجد أن الصبغة (ب) تتأكسد ببطء شديد فى حين أن (أ ، ج) لا يمكنهما أن يتفاعلا مع الأكسجين فى غياب انزيم cytochrome oxidase والصبغات السيتوكرومية البكتيرية تختلف عن تلك الخاصة بالخلايا الحيوانية أوخلايا الخميرة فى أن الخلايا البكتيرية قد تحتوى على عدد أكبر منها أو قد لا تحتوى عليها بالمرة . والبكتيريا *E. coli* تحتوى على صبغة واحدة منها لها نفس القدرة الامتصاصية الضوئية لتلك الخاصة بسيتوكروم (ب) ولكنها تختلف عنها فى أنها لا تتأكسد من نفسها not auto - oxidizable (تحتاج إلى سيتوكروم أكسيداز) ويطلق عليها سيتوكروم ($ب_1$) ويبين (جدول رقم ١٩) توزيع صبغات السيتوكروم بأنواعها المختلفة فى البكتيريات المختلفة . ومن الجدول المذكور نجد أن بعض الأنواع البكتيرية لا تحتوى على صبغات سيتوكرومية اطلاقا ، وبالتالى لا يمكنها أن تقوم بعمليات الأكسدة بالاستعانة بطرق السيتوكروم السابق وصفها . ومن المحتمل أن هذه الكائنات قد تحتوى على صبغات أخرى تحل محل صبغات السيتوكروم ولكن وجد أن نوعاً واحداً

من هذه البكتيريات يمكنه أن يفرز صبغات أخرى غير انزيمات السيتوكروم يمكنها أن تتأكسد بطريق عكسى . وهذا النوع البكتيرى هو *Pseudomonas pyocyanea* و *Pseudomonas aeruginoso* والتى تفرز نوع من الصبغات تعرف باسم البيوسيانين Pyocyanine يمكنها أن تعمل كحامل للايدروجين لبعض انزيمات ازالة الايدروجين . وعلاوة على ذلك فقد اشار البعض إلى احتمال احتواء خلايا هذا النوع البكتيرى على الصبغات السيتوكرومية

جدول رقم ١٩ : انتشار الصبغات السيتوكرومية فى البكتيريا المختلفة

البكتريا	الصفات السيتوكرومية			سيتوكروم أوكسيداز
	ا	ب	ج	
هوائية اجباراً				
Mycobaetterium tuberculosis	+	+	+	+
Azotobacter chroococcum	—	+	+	+
غير هوائية اختيارا				
Ps. Pyocyanea	+	+	+	+
Stap. aureus	+	+	—	+
E.coli	—	+	—	—
Salmonella typhosa	—	+	—	—
Lactobacillus acidopholus	—	—	—	—
غير هوائية اجباراً				
Clostridium tetani	—	—	—	—
Clostridium welchii	—	—	—	—

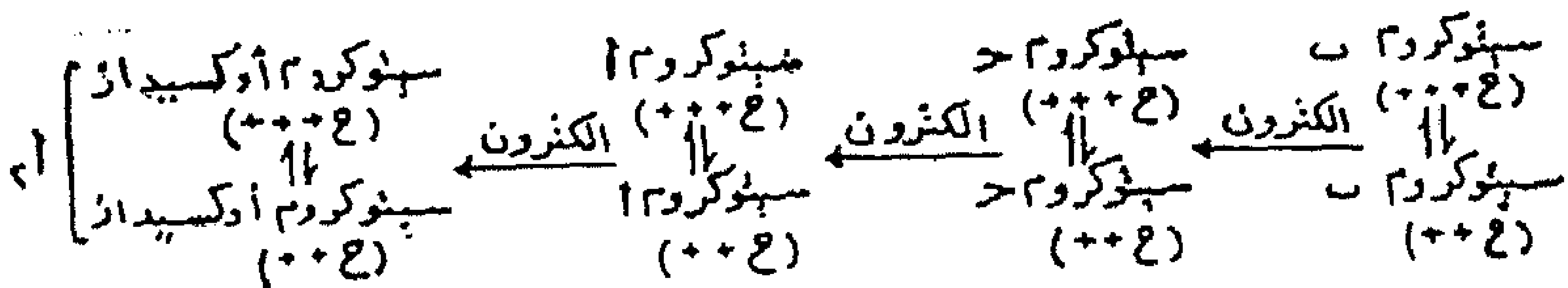
والبكتيريات الخالية من الصبغات السيتوكرومية إما أن تكون غير هوائية اجباراً أوميكروايروفيللية *microaerophillic* مثل Lactobacilli أو Streptococci

وهذا يوضح أن غياب صبغات السيتوكروم يؤدى إلى عجز الخلايا عن استعمال الأكسجين. وباستعمال انزيمات ازالة الهيدروجين المعزولة من الخلايا البكتيرية يمكن دراسة نشاطها خارج الخلايا باستبدال صبغات السيتوكروم ببعض الصبغات الأخرى التى تعرف باسم ريدكس redox مثل صبغة أزرق الميثيلين أو أزرق الكريزيل cresyl blue حيث تعمل أنزيمات ازلة الهيدروجين بنقل الأيدروجين من مادة التفاعل إلى الصبغة (dye) حيث أنه باختزالها يزال لونها ويمكنها أن تتفاعل مع الأكسجين مباشرة autooxidizoble •

ولما كانت كل من صبغات السيتوكروم عبارة عن صبغة تحتوى على الهيماتين وتكون متصلة بالبروتين الأنزيمى (كمرافقات أنزيمية) وأن انتقال الالكترونات يؤدى إلى تحويل محتوياتها من الحديد من صورة الحديديك إلى حديدوز فانه يمكن اعتبار نظام عملها كما يلى :

سيتوكروم سيتوكروم سيتوكروم

(ب) ← (جـ) ← (ا) ← سيتوكروم أوكسيداز ← ا٢



وبهذه الطريقة يبدو أن صبغات السيتوكروم تمرر الكترونات إلى الأكسجين ولكن عملية ازالة الايدروجين تقتضى ازالة (٢ يد) من مادة التفاعل وليس الكترونات. اذن ماالذى يقوم باختزال صبغات السيتوكروم؟ هناك نظم أخرى تتوسط صبغات السيتوكروم والمرافقات الانزيمية والتى يطلق عليها النظم التحويلية transforming systems وهذه النظم لها القدرة على تحويل (٢ يد) إلى)٢يد +) + الكترونين . وهذه النظم الأنزيمية تكون متراكبة بطريقة تسمح باعطاء الكترونات واحداً عقب الآخر وهذه هى التى تختزل صبغات السيتوكروم . وهذه النظم التحويلية هى عبارة عن انزيمات

تحتوى على فلافين فهى انزيمات flavoprotein dinucleotide ويمثلها انزيم cytochrome reductase فى حالة المرافق الأنزيمى Diaphorase'1 فى حالة المرافق الأنزيمى II كما سبق أن ذكرنا . وجزيئات هذه الانزيمات تكون ذات تركيب خـاص بحيث يكون أحد محتوياتها من ذرات النيتروجين ذو تكافؤ ٥ فى حين أن الذرة الأخرى تكون ذات تكافؤ ٣ . لذلك فان جزىء هذه المادة يمكنه أن يمرر الكترونات واحد عقب الآخر إلى الصبغات المحتوية على حديد . وايونات الايدروجين المنطلقة (يد +) تدخل فى محتويات الخلايا لتوازن أو تحل محل أيونات الايدروجين التى تتحد مع الأكسجين .

وظائف الطرق التنفسية :

إن الوظيفة الرئيسية للطرق التنفسية كما سبق أن بينا هو اطلاق الطاقـة وتوفيرها للكائن البكتيرى . بعض منها يطلق طاقة يمكن للخلايا الاستفادة منها فى كل احتياجاتها والبعض الآخر يطلق طاقة تستعمل فقط لتدفئة جسم الخلية علاوة على توفيرها لبعض المركبات الوسطية الهامة فى العمليات التخليقية بالخلية .

وعندما يمتلك كائن بكتيرى غير هوائى اختيارا طريق تنفس ينطلق عنه طاقة فان نمو هذا الكائن فى وجود الهواء يسمح باستهلاك كمية من مادة التفاعل تزيد بما قيمته ٥ — ١٠ مرات عما إذا نمى الكائن فى ظروف غير هوائيـة .

وهذا يبين أن كمية الطاقة المتكونة أثناء النمو فى وجود الهواء لكل وحدة من وحدات مادة التفاعل تكون أكبر منها فى حالة غيابه . والعلاقة بين كمية النمو ودرجة استهلاك مادة التفاعل فى وجود الهواء أو فى غيابه درست بالتفصيل واسفرت عن معلومات جديدة منها :

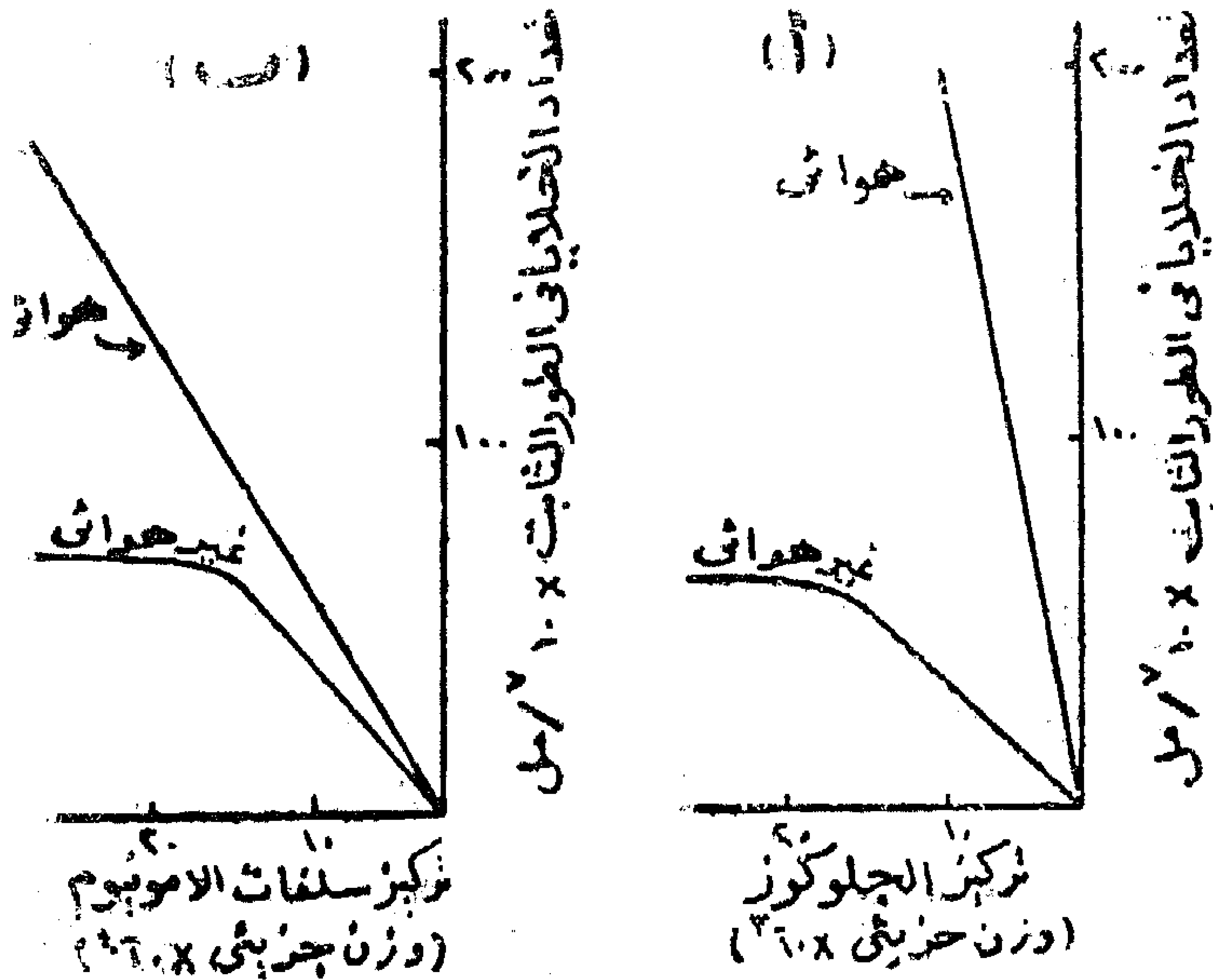
١ ـ تأثير باستير ، ٢ ـ الفسفرة التأكسدية ، ٣ ـ التمثيل التأكسدى .

وسوف نتناول باختصار كل من هذه الظواهر .

١ — تأثير باستير : Pasteur effect

ان مايعرف بتأثير باستير هو باختصار ماسبق شرحه من قبل عن علاقة النمو

والطاقة الناتجة من كل وحدة من وحدات مادة التفاعل فى وجود أو غياب الهواء . فكثير من الكائنات البكتيرية تنمو بدرجة افضل فى وجود الهواء . أو بمعنى آخر فان كمية مادة التفاعل اللازمة للحصول على نفس كمية النمو تكون أقل فى حالة وجود الهواء عنها فى غيابه بمعنى أن النمو فى وجود الهواء يكون أكفأ بكثير لكل وحدة من وحدات مادة التفاعل . ويبين (شكل١٠٥) هذه الظاهرة بوضوح . ففى المنحنى (ا) من هذا الشكل يلاحظ أنه عندما تكون كمية الجلوكوز هى العامل المحدد (١٠ ×١٠ – ٣ جزىء) يتوقف النمو فى غياب الهواء عندما يصل عدد الخلايا (٥٠× ١٠ ٧ / مل) فى حين يكون النمو فى وجود الهواء ٢٥٠×١٠ ٧ خلية / مل من المزرعة . وهذا يعنى أنه فى وجود نفس كمية مادة التفاعل يتفوق النمو فى حالة وجود الهواء. وفى الجزء ب من(شكل١٠٥)يلاحظ أنه فى حالة وجود المواد الغذائية التى



شكل ١٠٥ : العلاقة بين النمو ووجود الاكسجين فى خلايا البكتريا *Aerobacter aerogenes*
(ا) النمو على تركيزات مختلفة من الجلوكوز (ب) النمو على تركيزات مختلفة من سلفات الأمونيوم .

لايتطلبها الكائن البكتيرى لنموه (سلفات الامونيوم) يقل الفرق فى النمو إذا ماحدث فى وجود الهواء أو فى غيابه .

وقد سبق أن قسمنا البكتريات إلى مجاميع حسب حاجتها من الأكسجين ونعود هنا لمناقشة علاقة تأثير باستير بكل مجموعة . فمثلا البكتيريا غير الهوائية إجبارا والتى تتسمم فى وجود الأكسجين نتوقع اذن عدم وجود تأثير باستير أما فيما يختص بالبكتيريات التى لاتتأثر بوجود أو غياب الأكسجين **indifferents** والتى تمتلك طرقا توصلها إلى الأكسجين ولكن لاينشأ عن ذلك طاقة يمكن للخلايا استعمالها كالبكتيريا *Streptococcus Lactis* التى تنمو فى وجود الهواء بدرجة لاتختلف عن نموها فى غيابه ، وكذلك البكتيريا *Strep. faecalis* والتى تنمو فى بيئة (الببتون — جلوكوز) بدرجة متماثلة فى وجود أو غياب الهواء . مثل هذه البكتيريا لا تحتوى على صبغات سيتكرومية ، لذلك فعندما تنمو هوائيا لا تستهلك اكسجين . أما إذا نميت فى بيئة محتوية على جلسرول فهى تأكسده إلى حمض لاكتيك فى وجود الهواء فقط وتستهلك كمية كبيرة من الأكسجين مكونة (يد ٢ ا ٢) والمركب الأخير قد يسمم الخلايا إذا لم يزال منها . من ذلك نرى أن هذه البكتيريا لا تمتلك القدرة على أكسدة الجلوكوز هوائيا ولكنها تمتلك القدرة على أكسدة الجلسرول هوائيا وهذه القدرة لا ينطلق عنها طاقة كافية إلا أن تحولات حمض اللاكتيك الأخرى هى التى ينطلق عنها الطاقة اللازمة للخلايا . ففى وجود الهواء أو غيابه تكون كمية النمو الناتجة عن أكسدة جزىء واحد من الجلسرول مساوية لتلك الناتجة عن أكسدة نصف جزى جلوكوز . من ذلك يتضح أنه من الخطأ التقرير بأن مثل هذه الكائنات indifferents ، لا تمتلك طريقا يوصلها إلى الأكسجين أو أنها لا تستهلك الأكسجين . ولكن يمكن القول بأن استهلاكها للأكسجين لا ينطلق عنه طاقة يمكن للخلايا الاستفادة منها . ومعظم بكتيريا حمض اللاكتيك تنتمى إلى هذه المجموعة .

أما فيما يختص بالبكتيريا الاختيارية والتى يمكنها أيضا أن تنمو فى وجود

أو فى غياب الأكسجين ولكن نموها فى وجود الهواء يكون أفضل بكثير ، والبكتيريا *E. coli* تعتبر من أمثلة هذه المجموعة ، وطبيعى أن مثل هذه البكتيريا تظهر بوضوح تأثير باستير .

والبكتيريات الهوائية اجبارا والتى لا تنمو الا فى وجود الهواء ولا تنمو إطلاقا فى غيابه تظهر أقصى درجة من درجات تأثير باستير . وبعض العلماء يعتقدون أن تطبيق ظاهرة تأثير باستير على أفراد هذه المجموعة من الكائنات والتى يكون نموها معدوم فى حالة غياب الأكسجين تعتبر من الأمور المبالغ فيها ، وأن ظاهرة تأثير باستير لا يمكن تطبيقها الا على الكائنات الاختيارية فى احتياجاتها من الأكسجين مثل تلك الهوائية اختيارا أو غير الهوائية اختيارا

الفسفرة التأكسدية : Oxidative Phosphorylation

سبق أن ذكرنا فى الفصل السابق أن أحد صور الطاقة التى تستعملها الخلايا هى تلك المخزنة بالروابط الفسفورية الغنية بالطاقة . وفى عمليات الأكسدة التى تستغل الصبغات السيتوكرومية السابق وصفها تنتج روابط فسفورية غنية بالطاقة . اذن فهناك عمليات فسفرة تأكسدية حيث أن انتقال (٢ يد) من المرافقات الانزيمية (TPN أو DPN) عن طريق الانزيمات الفلافوبروتينية flavoproteins (cyt. reductase أو diaphorase) إلى صبغات السيتوكروم وبالتالى إلى انزيم cyt. oxidase ثم إلى الأكسجين يتحول الفوسفات المعدنى إلى روابط فسفورية غنية بالطاقة فى مركبات عضوية . وبانطلاق طاقة نتيجة لمرور (٢ يد) بالخطوات السابق الاشارة إليها فانه يتكون ٤ روابط فوسفورية غنية بالطاقة لكل جزىء من الايدروجين (٢يد) المنقول .

من ذلك يتضح أن انتقال الايدروجين إلى الأكسجين عن طريق نظام سيتوكرومى كامل فان الطاقة الناتجة لا تظهر على صورة حرارة بل فى صور يمكن للخلايا استغلالها ويمكن قياسها ليس فقط عن طريق تقدير النمو بل

أيضا عن طريق كمية الفوسفات المعدنية التى تتحول إلى صور تحتوى على روابط غنية بالطاقة .

٣ — التمثيل البنائى التأكسدى oxidative assimilation

ظاهرة تشبه تلك التى تميز زيادة النمو فى وجود الهواء ولكن تختلف عنها فى أن الخلايا نفسها تكون متوقفة عن النمو أثناء تقديره . بمعنى أنه عندما يراد دراسة قدرة الخلايا على استعمال مادة تفاعل معينة كالجلوكوز أو اللاكتوز تضاف هذه المواد إلى الخلايا المستريحة resting cells (متوقفة عن النمو) وبعد فترة معينة تختفى مادة التفاعل وحينئذ تتوقف عمليات الأكسدة. وباجراء التحليلات اللازمة لمثل هذا المخلوط نجد أن ٣٠—٦٠٪ من مادة التفاعل تأكسدت متحولة إلى (ك ا $_٢$ + يد $_٢$ا) وما يتبقى يكون قد مثل بالخلايا فمثلا إذا أضيف ١٠ جزيئات من الجلوكوز (٦٠ جزىء كربون) ففى المواد الناتجة يمكننا أن نقدر ٣٠ جزىء (ك ا $_٢$) بالرغم من اختفاء كل الجلوكوز المضاف. لذلك نجد أن الخلايا قد زادت بما يقرب من ٣٠ جزىء كربون . وهذا التمثيل التأكسدى يرجع إلى الطاقة المنطلقة من عمليات الأكسدة والتى تسمح بتحويل جزء من مواد التفاعل إلى مكونات خلوية .

مستقبلات الايدروجين الأخرى غير الأكسجين الغازى

Hydrogen acceptors other than gaseous oxygen

ان الأكسجين الغازى قد لا يكون متوافرا دائما للخلايا البكتيرية ، وتتواجد بالطبيعة طرقا يستغل فيها الطاقة الناتجة عن تكوين الماء بالرغم من غياب الأكسجين الغازى . وتوجد مجموعتان من الكائنات يمكنها الحصول على الطاقة اللازمة لها عن هذا الطريق . المجموعة الأولى تشتمل على البكتيريات غير الهوائية اجبارا والتى تمتلك القدرة على توصيل الايدروجين إلى الأكسجين المرتبط (غير الحر) ويمكنها عن هذا الطريق النمو فى غياب الأكسجين الغازى الحر بشرط أن تتواجد المركبات المحتوية على الأكسجين المرتبط .

والمجموعة الثانية تشتمل على كائنات غير قادرة على النمو الهوائى ولكنها لاتتسمم فى وجود الهواء حيث لاتمتلك القدرة على استغلال الأكسجين الغازى، ولكنها تمتلك القدرة على استعمال الأكسجين المرتبط .

الكائنات التى تستعمل الأكسجين المرتبط فقط :

يمكن تقسيم هذه الكائنات إلى مجموعتين رئيسيتين مجموعة تشتمل على البكتيريات ذات القدرة على توصيل الأيدروجين إلى الكبريتات والأخرى تشمل الكائنات التى تستعمل (ك ا $_{٢}$) كمادة نهائية لاستقبال الايدروجين وينتج عن ذلك تكوين غاز الميثان . وكلا المجموعتين تشتمل على عدد قليل من الكائنات .

وقدرة البكتيريات على استعمال الكبريتات كمستقبل نهائى للايدروجين تميز قليل من الأنواع البكتيرية غير الهوائية اجبارا والتى تنتشر بكثرة فى الطبيعة . ومن أمثلتها البكتريا *Vibrio desulfuricans* ، وهى بكتيريا غير هوائية اجبارا ، ميزوفيللية (٣٠°م) ، سالبة لصبغة جرام، غير متجرثمة ، تتميز بظاهرتين شاذتين . فأحيانا يمكن أن يعزل من التربة بكتيريات ذات الأوصاف السابقة إلا أنها تكون جراثيما داخلية وتفضل النمو على درجات مرتفعة من الحرارة (ثرموفيلية ٥٥°م) . وعندما يزرع هذا النوع الميزوفيللى منها مباشرة على درجة حرارة مرتفعة ٥٥° م فانها تمتنع عن النمو . أما إذا أقلمت تدريجيا للنمو على درجة ٤٠° م ثم ٤٥°م ثم ٥٠° م وأخيرا ٥٥° م يمكن لهذه الخلايا أن تنمو فيما بعد على درجة ٥٥° م وتبدأ الخلايا حينئذ فى التجرثم . وإذا أعيد تنمية هذه الخلايا على درجة ٣٠° م مرة أخرى فانها تنمو ولكن لاتكون جراثيما داخلية . وهذه حالة يحدث فيها أن تتحول البكتيريات الميزوفيللية إلى ثرموفيللية نتيجة للأقلمة الحرارية والتى فيها أيضا تتحول الخلايا غير المتجرثمة الميزوفيللية إلى خلايا متجرثمة ثرموفيللية .

والمجموعة الثانية وهى البكتيريات ذات القدرة على استعمال (ك ا$_{٢}$) كمستقبل نهائى للايدروجين هى أيضا غير هوائية اجبارا . وبالطبع كل الكائنات التى يمكنها تمثيل (ك ا$_{٢}$) فى محتوياتها الخلوية يجب أن تختزله أولا . ولكننا هنا نقصد الكائنات التى يمكنها اختزال (ك ا$_{٢}$) إلى ميثان (ك يد$_{٤}$) وتعرف هذه البكتيريات باسم بكتيريا الميثان وهى التى يمكنها تكوين كميات كبيرة منه. و (ك ا$_{٢}$) فى هذه الحالة يستعمل كمصدر للأكسجين و (٢يد) المنقول من مواد التفاعل هو الذى يختزل (ك ا$_{٢}$) (ك يد$_{٤}$) ويتكون الماء أيضا كناتج للتفاعل. كما ينتج أيضا عن هذا التفاعل كمية من الطاقة كما سبق أن بينا . والمثال التالى يوضح كيفية حدوث ذلك فى حالة استعمال كحول الايزوبروبايل كمادة للتفاعل . والذى ينتج عنه اسيتون لاتستعمله الخلايا .

ا
ا ا
٤ك يد$_{٣}$ — ك يد ا يد — ك يد$_{٣}$ + ك ا$_{٢}$ ← ٤ ك يد$_{٣}$ — ك — ك يد$_{٣}$ +
كحول ايزوبروبايل　　　　اسيتون
ك يد$_{٤}$ + ٢ يد$_{٢}$ ا
ميثان

وهناك بعض السلالات يمكنها النمو فى مزارع نقية على بيئة تحتوى على مخلوط من (ك ا$_{٢}$ + يد$_{٢}$) مكونة ميثان وطاقة . كما توجد سلالات يمكنها أن تستعمل حمض الفورميك لتكون ميثان و (ك ا$_{٢}$) وماء ومكونات خلوية وفى كل هذه الحالات لا يمكن أن يستبدل (ك ا$_{٢}$) بأى مادة أخرى.

الكائنات التى تستعمل كل من الأكسجين الغازى والأكسجين المرتبط:

هذه الكائنات تكون هوائية إجبارا والتى يمكنها أن تنمو فى غياب الهواء إذا تواجد الأكسجين المرتبط . وتعتبر النترات المصدر الوحيد للأكسجين المرتبط لهذه المجموعة من الكائنات وأحيانا يؤدى النيتريت نفس الغرض فى

بعض الحالات الخاصة . وفى الحقيقة أن بعض البكتيريات الهوائية اجبارا يمكنها أن تنمو إلى حد مافى ظروف غير هوائية إذا مازودت بيئاتها بمصدر من الأكسجين المرتبط أو مستقبلات الكترونية أخرى مثل الفريسيانيد ferricyanide ولكن فى معظم هذه الحالات يمكن لهذه المواد أن تتفاعل فى بعض خطواتها إلى أن تصل إلى الأكسجين بالطرق العادية . هذا واستعمال النترات كمستقبلات للايدروجين لا يتضمن طرقا عادية للوصول إلى الأكسجين واستقبال النترات للايدروجين تبدو عملية خاصة ووحيدة من نوعها وتؤدى فى النهاية إلى اطلاق غاز النيتروجين حيث تعرف باسم عملية عكس التأزت denitrification .

وعادة كل كائن بكتيرى يمكنه أن يستغل النترات كمصدر للايدروجين يكون له القدرة على اختزالها إلى أمونيا داخل الخلايا. وهذه العملية تعتبر ذات أهمية بسيطة من ناحية استغلال النترات كمصدر للاكسجين وتعرف باسم عملية تمثيل النترات nitrate assimilation (ن ا$_{٣}^{-}$ ⟵ ن يد$_{٤}^{+}$) كما أن هناك عدة كائنات يمكنها استغلال النترات كمستقبلات للايدروجين وذلك بتحويلها إلى نيتريت (نا$_{٣}^{-}$ ⟵ نا$_{٢}$) والعملية تعرف باسم إختزال النترات nitrate reduction . وفى هذه الحالة تقوم النترات بوظيفة تنفسية هامة ولكن بدرجة محدودة حيث أن النيتريت المتكون يكون ساما نوعا ما للخلايا . من ذلك نرى أن مثل هذا التفاعل قد يسمح إلى حد ما للبكتيريات الهوائية إجبارا بالنمو فى غياب الأكسجين الغازى .

وعملية عكس التأزت denitrification والتى سبق أن أشرنا إليها والتى يتحول فيها كل من النترات (نا$_{٣}^{-}$) أو النيتريت (نا$_{٢}^{-}$) أو أكسيد النيتروجين (نا$_{٢}$) إلى نيتروجين غازى يقوم بها عدد محدود من الكائنات البكتيرية الهوائية مثل انواع الجنس *Bacillus* ، وبعض انواع الجنس *Pseudomonas*. والعملية تتم فقط عندما تتواجد هذه البكتيريات تحت ظروف غير

هوائية ، وتفاصيل الخطوات التى تتم بها هذه التفاعلات لإطلاق غاز النيتروجين غير معروفة على وجه التحديد إلا أنه وجد أن من ضمن المواد الوسطية الناتجة (حمض الهيبونيتروز hyponitrous acid ، والنترامايد nitramide والنتروكسيل nitroxyl والهيدروكسألامين hydroxalamine) .

البكتيريات غير الهوائية إجبارا :

سبق أن ذكرنا أن التفاعلات الهامة لإزالة الأيدروجين من المواد المعطية له وتوصيله إلى المواد التى تستقبله ينتج عنها طاقة ، وتكون مسئولة عن حدوث التخمر ، وعن إمكانية الحياة بدون الحاجة إلى الهواء . ثم ناقشنا أيضا كيفية استعمال بعض الكائنات البكتيرية للكبريتات أو النترات أو (ك ا $_2$) كمستقبلات ديدروجينية . والميزة التى تعود على الكائن الذى يتميز بواحد أو بأكثر من هذه الطرق هى الحصول على مزيد من الطاقة لكل جزىء يستعمل من مادة التفاعل . ولكن يبدو أنه ليس لوجود الأكسجين (الغازى أو المرتبط) أهمية قصوى لأى من الطرق غير أن وجوده يعتبر من الصفات المميزة للكائنات من ناحية الحصول على الطاقة .

وهناك مجموعة من الكائنات البكتيرية تعرف بالبكتيريات غير الهوائية إجباراً والتى يكون الأكسجين ضارا لها . لماذا اذن لاتنمو مثل هذه الكائنات تحت ظروف هوائية أو بمعنى آخر فى وجود الأكسجين ؟

فى الحقيقة أن البكتيريات التابعة لجنس *Clostridium* ، وبعض البكتيريات الأخرى غير الهوائية يمكنها أن تبدأ النمو وتستمر فيه فى وجود كميات قليلة من الهواء ، ولكن هناك كثير من البكتيريات لايمكنها ذلك والأخيرة هى التى تهمنا . فللاجابة على السؤال السابق نسوق النظريات التالية :

١ — أن الأكسجين يعتبر ساما لمثل هذه البكتيريات

٢ — فى وجود الأكسجين يتكون بخلايا الكائن غير الهوائى كمية كبيرة من

فوق اكسيد الايدروجين (يد$_٢$ ا$_٢$) السام حيث أن البكتيريات غير الهوائية اجبارا لاتمتلك انزيم الكاتاليز لتساعد على هدم فوق اكسيد الايدروجين إلى ماء + ا$_٢$.

٣ ــ يحتاج الكائن غير الهوائي اجبار إلى قدرة تأكسدية واختزالية (o/R)oxidation-reduction potential منخفضة ولكن اذا توفرت المواد ذات القدرة التأكسدية الاختزالية المنخفضة فان النمو يمكنه أن يحدث حتى فى وجود الأكسجين . ولتفسير المقصود بالقدرة التأكسدية الاختزالية نذكر أن فى كثير من تفاعلات ازالة الايدروجين فان ٢ يد الذى ينطلق يتحول إلى ايونات ايدروجين والكترونات [٢ يد ⇄ ٢ (يد + + الكترون] . فاذا وضعت قطعة من معدن غير فعال (مثل قطعة بلاتين) فى المحلول الذى تحدث فيه هذه العملية فان الالكترونات تتجمع على القطعة المعدنية محدثة شحنات كهربائية يمكن قياسها . وهذه القياسات تكون متلازمة مع نسبة المواد المؤكسدة إلى تلك المختزلة والتى تتواجد بالمحلول . وقد وجد أن كثيرا من الكائنات غير الهوائية لاتنمو فى البيئات المحتوية أو المعاملة بفوق اكسيد الايدروجين أو البرمنجات أو أى مادة مؤكسدة قوية . وبعض البكتيريات الهوائية من الناحية الأخرى لا يمكنها النمو حتى فى وجود الهواء فى بيئات محتوية على الثيوجليكولات أو السستايين cysteine أو ايونات معدنية . وعدم القدرة على النمو فى كلا الحالتين يرجع إلى عدم القدرة على بدء النمو من كميات لقاح صغيرة . ففى حالة البيئات المعاملة بالمواد المؤكسدة تكون لها قدرة تأكسدية اختزالية قوية وتلك المعاملة بالعوامل المختزلة يكون لها قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة. من هنا يبدو أن تأثير القدرة التأكسدية الاختزالية يتركز على بدء النمو ولا يمكن فى هذه الأحوال معرفة أى يمكن اعتباره المسبب وأى يعتبر النتيجة .

من ذلك يتضح أن النظريتين الأولى والثانية لتفسير عدم قدرة البكتيريات غير الهوائية على النمو فى وجود الهواء ليست سليمة بالرغم من وجود مايؤيدها من براهين . والدليل على ذلك هو أنه عند تعريض المزارع البكتيرية غير

الهوائية اجبارا للأكسجين لفترات طويلة لايؤدى إلى قتلها بل تمكنها أن تنمو مرة ثانية إذا ماأبعدت عن الهواء . فإذا كان أى من النظريتين المذكورتين صحيحا فإن التعرض للأكسجين يجب أن يمنع النمو بصفة دائمة أو بمعنى آخر كان لابد لفوق أكسيد الايدروجين المفروض تكونه أن يميت الخلايا . ولكن لايحدث ذلك فى حدود معينة ، ولهذا لايعنى أن الأكسجين أو (يد٢ ا٢) ليس لها تأثير على النمو بل يعنى أن وجودهما ليس مميتا للخلايا . إذن فالاكسجين أو (يد٢ ا٢) يعمل على إيقاف النمو شأنه شأن المواد الكيماوية الموقفة للنمو والسابق الاشارة إليها . من ذلك يجب تعديل هذه النظريات كما يلى :

١ — أن الأكسجين يمنع النمو طالما كان موجودا . وقد يكون ساما ولكن بدرجة غير مميتة للخلايا .

٢ — وجود الأكسجين يسمح بتكوين (يد٢ ا٢)والذى بدوره يكون ساما وليس مميتا .

٣ — يشترط وجود قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة لحدوث النمو فى غياب الأكسجين .

والآن وبعد تعديل هذه النظريات يتضح أن النظريات الثلاث مرتبطة ببعضها بحيث لايمكن التفرقة بينها . فمثلا النظريتان الثانية والثالثة تعتبران ، تفسيرا للنظرية الأولى . وفى إعتقادنا أن النظريتين الأخيرتين هما الأقرب إلى الحقيقة . ويوجد من الحقائق مايؤيد هاتين النظريتين . إلا أنه توجد أيضا حقائق ضدهما منها مايلى .

١ — يمكن إظهار كمية الأكسجين التى تأخذها الخلايا oxygen uptake عند استعمالها لمواد تفاعل معينة . ولما كانت هذه الكائنات غير الهوائية تفتقر إلى طرق التنفس السيتوكرومية فإن الأكسجين المأخوذ فى هذه الحالة ينتج عنه (يد٢ا٢) . ولما كانت هذه الكائنات تفتقر إلى انزيم الكاتاليز فإن (يد٢ا٢)

الناتج يتكدس بالخلايا . والغريب فى هذا أنه فى بعض الأحيان بالرغم من أخذ الخلايا للأكسجين ، ومن تكدس (يد٢ا٢) ، فإن الخلايا غير الهوائية تستمر فى نموها إذا ماوضعت فى بيئة خالية من الأكسجين أو (يد٢ا٢). وهذا يعنى أن هذه الكائنات البكتيرية لايمكنها النمو فى وجود الأكسجين ، ولكن تعريضها إليه لفترة مؤقتة لايمنع نموها بصفة دائمة إذا مابعدت عن الأكسجين ، وإلى هنا نجد أن كل هذه الحقائق تؤيد النظرية الثانية وهى أن (يد٢ا٢) يمنع النمو طالما كان موجودا . ولكن هناك بعض البكتيريات غير الهوائية لم يمكن التأكد من ملاحظة استهلاكها للاكسجين كما لم يلاحظ بعد احتوائها على (يد٢ا٢) أو بيرواكسيدات أخرى إلا أنها تظهر بالرغم من هذا عدم القدرة على النمو فى وجود الهواء .

٢ — قد أمكن التحقق من أن البكتيريات غير الهوائية يمكنها النمو فى البيئات ذات القدرة التأكسدية الاختزالية المرتفعة إذا ماأزيل منها الأكسجين . من ذلك نرى أن النمو غير الهوائى لايتطلب قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة «كما تنص النظرية الثالثة» بل أنه يتطلب فقط غياب الأكسجين من البيئة وهذه الحقيقة تبدو متعارضة مع النظرية الثالثة والسابق الاشارة إليها . من ذلك يتضح أن الأمر فيما يختص بعدم قدرة البكتيريات غير الهوائية على النمو فى وجود الأكسجين لازال يحتاج إلى مزيد من البحث ؟

المراجـــع

Clifton. C. E. 1946. Microbial assimilation Advances in Enzymology 6 : 269.

Green, D. E. 1941. Mechanisms of biloogical oxidation. Cambridge Unversity Press, Cambridge.

Green, D. E. 1941. Enzymes and trace substances. Advances in Enzymology. 1 : 177.

Gale, E.F. 1952. The Chemical Activities of Bacteria. Academic Press Inc. N. Y. University Tutorial Press Ltd. London.

Lardy, H. E. 1949. Respiratory enzymes. Burgess Publishing Co. Men neapolis.

Oginsky, L. E. and W. W. Umbret, 1954. An Introduction to Bacteriar physiology. W. H. Freeman and Co. San Francisco.

Stickland, L. H. 1934. Studies on the Metabolism of Strict Anaerobes (Genus *Clostridium*). The Chemical Reactions by Which *Cl. Sporogenes* Obtains its energy. Biochem. J. 28 : 1746.

Vennesland, B. and M. E. Hanke, 1940. The Oxidation — Reductio Potential Requirements of Non spore forming, Obligate Anaerobe. J. Bacteriol . 39 : 139.

الفصل الثالث

التحولات الأيضية للكربوايدرات

The Metabolism of Carbohydrates

سبق أن ذكرنا أن النمو البكتيرى يتضمن تمثيل المواد الغذائية الأساسية التى تتوفر فى بيئة النمو ، وتحويلها إلى مكونات خلوية مختلفة . والمكونات الخلوية هذه تكون أكثر تعقيدا من المواد الغذائية الأساسية فمثلا تمكن للبكتيريات ذاتية التغذية أن تكون بروتينها الخلوى من الامونيا وغاز ثانى اكسيد الكربون ومن الناحية الأخرى يمكن القول أن كمية الطاقة المخزونة بالمحتويات الخلوية تكون أكبر كثيرا من الطاقة المتواجدة بالمواد الغذائية الخام . وتبعا لذلك فانه يلزم توفير الطاقة قبل أن تبدأ الخلايا فى عملياتها التخليقية أو حتى قبل أقدامها على النمو . وتكتسب المحتويات الخلوية الطاقة المرتفعة التى تميزها ، عن طريق هدم مكونات البيئة التى تستعمل كمصدر للطاقة . وعادة تحصل الخلايا البكتيرية على طاقتها بهدم الكربوايدرات المتواجدة بالبيئة ، وعملية الهدم هذه يمكنها أن تحدث فى ظروف غير هوائية وتعرف العملية باسم التخمر fermentation أو قد تحدث فى ظروف هوائية عن طريق عمليات تأكسدية .

وسوف نتناول فى هذا الفصل مناقشة عمليات هدم الكربوايدرات هوائيا (اكسدة) وغير هوائيا (تخمر) ، أما العمليات التخليقية البنائية للكربوايدرات فسوف نناقشها أيضا كلما سنحت الفرصة لذكرها . وسوف نبين فى دراستنا للتحولات الايضية للكربوايدرات طريقين رئيسيين كل منهما يتضمن مجموعة من التفاعلات تؤدى إلى تحويل سكر الجلوكوز إلى حمض بيروفيك (الذى يعتبر المادة الاساسية التى تتكون فى التخمرات المختلفة) ثم نتابع التفاعلات المختلفة التى تعقب انتاج حمض البيروفيك من الجلوكوز (أو من مصادر أخرى) . وعديد من هذه التفاعلات وبخاصة التفاعلات التى يشملها نظام مايرهوف امبدين Meyerhof — Embeden system وكذا تفاعلات

دورة حمض الستريك citric acid cycle لها صفات وممزات ووظائف فسيولوجية هامة يجب على كل من يقوم بدراسة فسيولوجيا البكتيريا أن يلم بها .

إن معظم أنواع البكتيريات المعروفة يمكنها أن تعيش على بيئات تحتوى على مواد كربوايداراتية . كما أن غالبيتها العظمى (باستثناء حالات فردية) يمكنها استعمال سكر الجلوكوز كمصدر للكربون . وسوف ينصب اهتمامنا على هذا السكر الاحادى للتعرف على طرق تخمره والمواد التى تنتج عنه حيث أن معظم الدراسات التخمرية قد تمت باستعمال هذا السكر . إن نواتج تخمر الكربوايدرات بواسطة خلايا البكتيريا عديدة (جدول رقم ٢٠) تختلف ، باختلاف البكتيريا المخمرة . وكما سبق أن بينا فإنه يمكن التفرقة بين البكتيريات فى الدراسات التصنيفية على أساس قدراتها التخمرية وكذلك على أساس المواد الناتجة عن التفاعلات التخمرية .

وتبعا لنواتج تخمر الجلوكوز أمكن تمييز ست مجاميع تخمرية مختلفة من هذه البكتيريات وهى كما يلى :

١ — بكتيريات تحدث تخمر كحولى .

٢ — بكتيريات تحدث تخمر لاكتيكى بسيط حيث يتحول كل الجلوز إلى حمض لاكتيك وتعرف البكتيريات التى تتميز بهذا النوع من التخمر باسم البكتيريات الاحادية التخمر homofermentus مثل Lacotobacilli, Streptococci .

٣ — بكتيريات تحدث تخمر لاكتيكى مختلط Mixed lactic fermentation: حيث ينتج حمض لاكيتك مختلطا مع حمض الخليك وكحول الايثايل وثانى اكسيد الكربون واحيانا ينتج جلسرول .

جدول ٢٠ : نواتج تخمر سكر الجلوكوز بواسطة البكتيريات غير ذاتية التغذية .

غازات	احماض	كحولات	كيتون واحد
ثانى اكسيد الكربون	الفورميك	ايثايل	اسيتون
ك ا$_{٢}$	يد – ك ا ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك يد$_{٢}$ ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك ا – ك يد$_{٣}$
ايدروجين (٢يد)	الخليك	بروبايل	
	ك يد$_{٣}$ – ك ا ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك يد$_{٢}$ – ك يد$_{٢}$ ا يد	
	بروبيونيك	ايزوبروبايل	
	ك يد$_{٣}$ – ك يد$_{٢}$ – ك ا ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك يد ا يد – ك يد$_{٣}$	
	لاكتيك	بيوتايل	
	ك يد$_{٣}$ – ك يد ا يد – ك ا ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك يد$_{٢}$ – ك يد$_{٢}$ – ك يد$_{٢}$ ا يد	
	البيروفيك	٢، ٣، بيوتيلين جليكول	
	ك يد$_{٣}$ – ك ا – ك ا ا يد	ك يد$_{٣}$ – ك يد ا يد – ك يد ا يد – ك يد$_{٣}$	
	البيوتيريك		
	ك يد$_{٣}$ – ك يد$_{٢}$ – ك يد$_{٢}$ – ك ا ا يد		
	السكسنيك		
	ك ا ا يد – ك يد$_{٢}$ – ك يد$_{٢}$ – ك ا ا يد		
مركبات متعادلة :	استيل مثيل كربينول	ك يد$_{٣}$ – ك يد ا يد – ك ا – ك يد$_{٣}$	
	دى اسيتيل	ك يد$_{٣}$ – ك ا – ك ا – ك يد$_{٣}$	

٤ — بكتيريات تحدث تخمر بروبيونى Propionic fermentation :
حيث تنتج كمية بسيطة من حمض اللاكتيك علاوة على حمض البروبيونيك وحمض الخليك ، وحمض السكسنيك وثانى اكسيد الكربون .

٥ — بكتيريات مجموعة القولون Colon — dysentry-typhoid group(CDT)
يمكنها احداث تخمر مميز يتكون نتيجته حمض لاكتيك . وحمض

فورميك (يدك اايد) ، وكحول ايثايل وبيوتيلين جليكول ، وأحيانا أسيتون . وتقسم هذه المجموعة أحيانا إلى مجموعة تعطى تخمرات حمضية مختلطة وأخرى تعطى بيوتيلين جليكول .

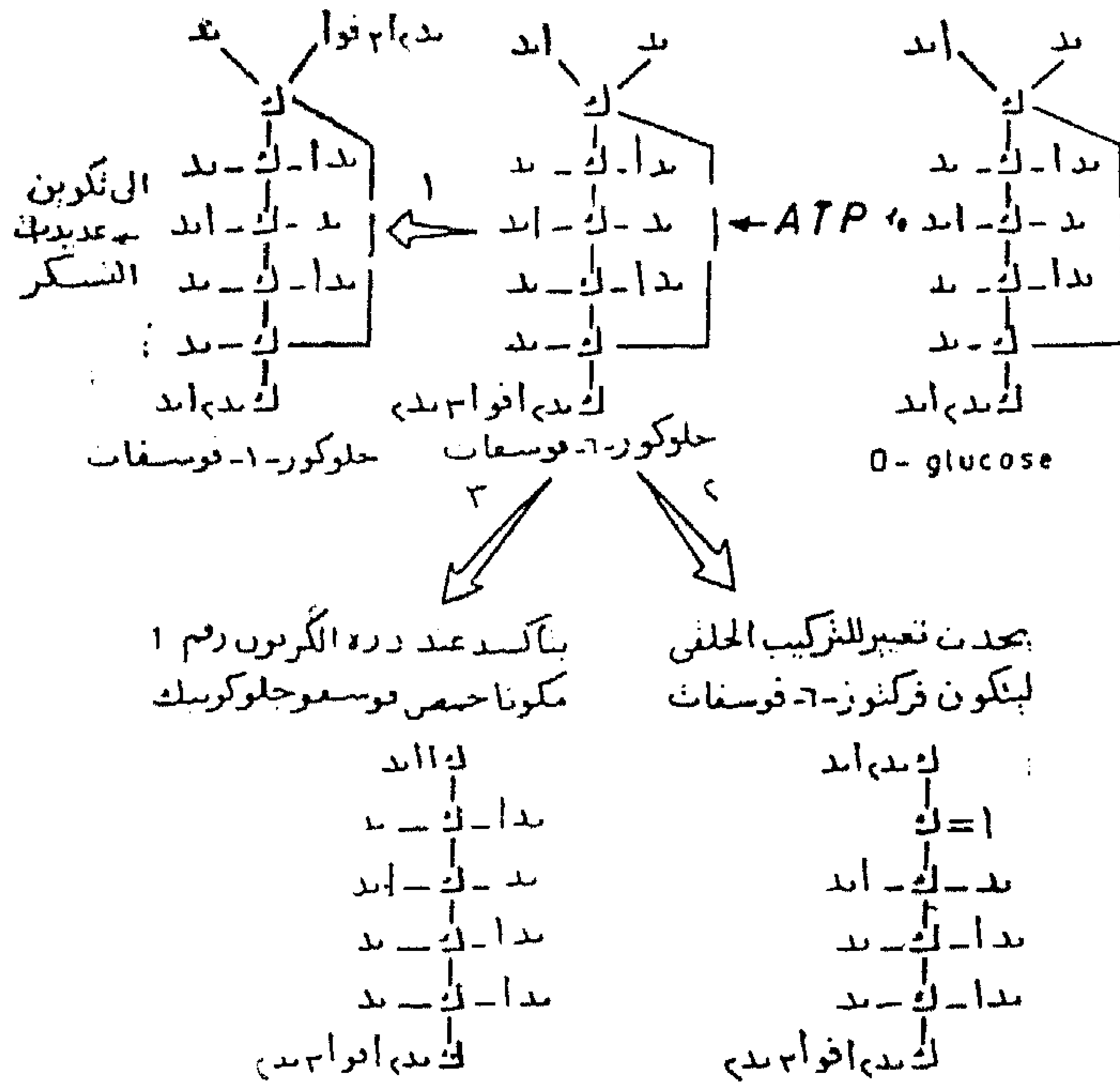
٦ — بكتيريات تحدث تخمر بيوتيرى Butyrie fermentations : لاتنتج حمض لاكتيك بل تنتج حمض خليك ، وحمض بيوتيريك وكمية كبيرة من غازى الايدروجين وثانى اكسيد الكربون . بعض الأنواع قد تنتج اسيتون وبيوتيلين جليكول ، وكحول بيوتايل وكحول ايزوبروبايل .

وقد يتساءل البعض عن كيفية تكون مثل هذه المواد من جزيئات الجلوكوز وللاجابة على هذا التساؤل قامت دراسات عديدة ومتشعبة لفترة طويلة من الزمن أمكن عقبها التعرف على التفاصيل الدقيقة التى تتم لتكوين هذه المركبات والتى لايتسع المجال هنا لسردها جميعا . ومن ضمن هذه الدراسات تلك التى أدت إلى التعرف على طرق هدم الجلوكوز غير هوائى فى خلايا العضلات الحيوانية وكذا فى خلايا الخميرة والتى تعرف باسم «جليكوليسز glycolysis »

وقد أمكن حديثا التأكد من حدوثها بخلايا البكتيريا عندما تقدمت الطرق الدراسية فى عزل الانزيمات البكتيرية فى صورة نشطة خارج الخلايا . وعموما تتشابه خلايا البكتيريا وخلايا الخميرة وكذلك خلايا أنسجة العضلات فى خطوات عملية الجليكوليسز هذه إلى الخطوة التى يتكون عندها حمض كما البيروفيك كما سنرى فيما بعد .

وفيما يلى مايحدث لجزىء سكر الجلوكوز من عمليات هدمية تحت الظروف غير الهوائية :

١ — يتحول جزىء الجلوكوز أولا إلى استر فوسفاتى هو عبارة عن جلوكوز — ٦ — فوسفات فى وجود جزىء T A P المحتوى على روابط فوسفورية غنية بالطاقة . ويمكن لهذا المركب بعد تكونه أن يسير فى ثلاث إتجاهات مختلفة كما هو مبين فى (شكل ١٠٦) .



شكل ١٠٦ : الطرق الثلاث المختلفة التى تتبعها الخلايا الحية فى التصرف فى المركب جلوكوز – ٦ – فوسفات تحت الظروف غير الهوائية .

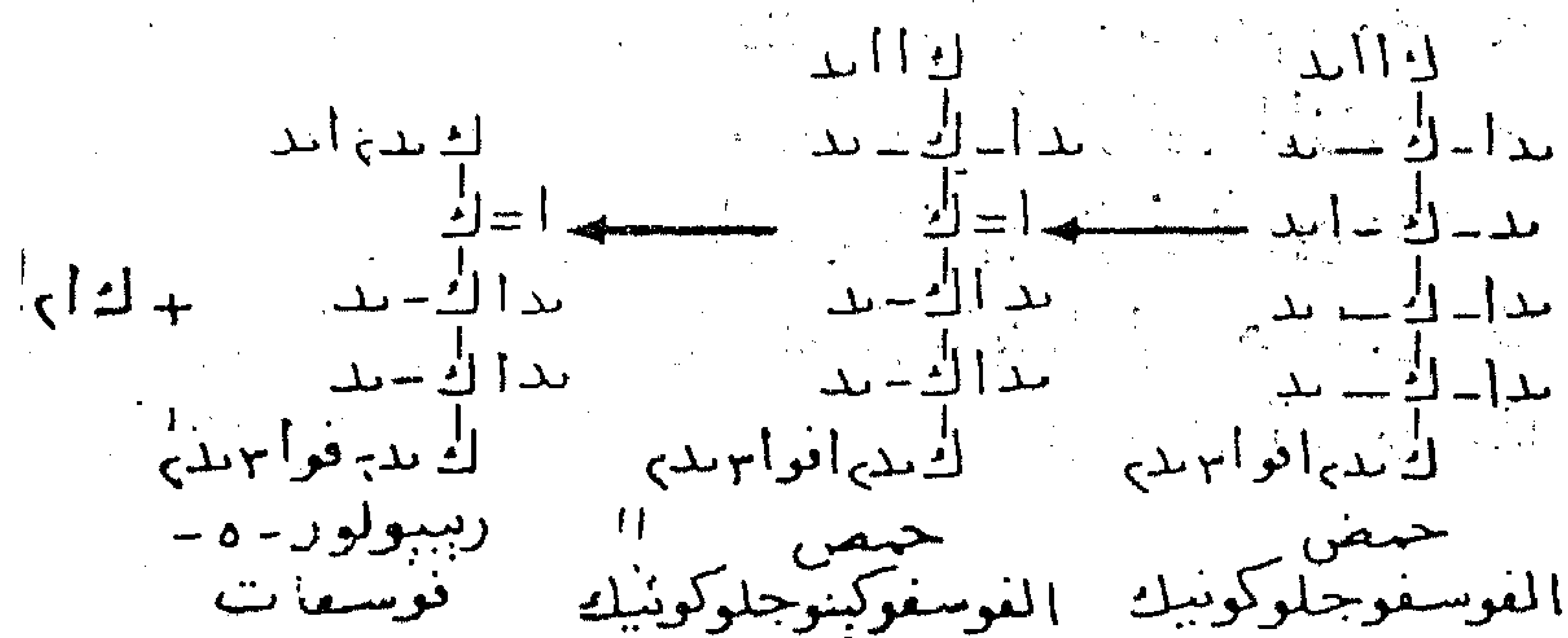
٢ — تنقل الفوسفات من ذرة الكربون رقم ٦ إلى الذرة رقم ١ . ليتكون المركب جلوكوز — ١ — فوسفات . وهذا التغير فى تركيب الجزىء شكل لايؤدى إلى هدمه أو انقسامه بل أن المركب الناتج يستغل فى تكوين عديدات التسكر اللازمة للخلية .إذن فهذا الاتجاه يعتبر اتجاها بنائيا وليس هدميا .وسوف نعود لمناقشة تكون عديدات التسكر فى البكتيريات فى مكان آخر من هذا الفصل ..

٣ — يحدث تغيير للتركيب الحلقى للمركب جلوكوز — ٦ — فوسفات متحولا إلى فركتوز — ٦— فوسفات . وبالمركب الأخير تبدأ سلسلة من التفاعلات التى تؤدى إلى تكوين مركبين كل منهما ذو ثلاثة ذرات كربونية

والتى تتحول بدورها إلى حمض بيروفيك ، والتحولات الايضية لهذا الحمض يتخذ طرقا متعددة .

ويعتبر هذا الطريق أعنى (تحول الجلوكوز — ٦ — فوسفات إلى حمض بيروفيك) من أكثر الطرق دراسة ويعرف بنظام مايرهوف امبدن Meyrhof Embdbene system . وهو يشمل الطرق الرئيسية المتبعة فى هدم الجلوكوز فى أنسجة العضلات الحيوانية وفى خلايا الخميرة كما أنه يحدث بكثرة أيضا فى الخلايا البكتيرية . ويبين (شكل ١٠٨) تفاصيل التفاعلات المختلفة التى يتضمنها هذا النظام .

٤ — والاتجاه الذى قد يتخذه المركب جلوكوز — ٦ — فوسفات يتضمن حدوث اكسدة فى جزيئاته عند ذرة الكربون رقم ١ وينشأ عن ذلك تكون حمض الفوسفوجلوكونيك phosphogluconic acid (شكل ١٠٦) ويمكن لهذا المركب أن يتأكسد مرة ثانية عند ذرة الكربون رقم ٣ وبعد هذا التأكسد تنفصل منه ذرة كربون فى صورة ك ا٢ ويتبقى مركب وسطى يتكون من ٥ ذرات كربونية كما يلى :



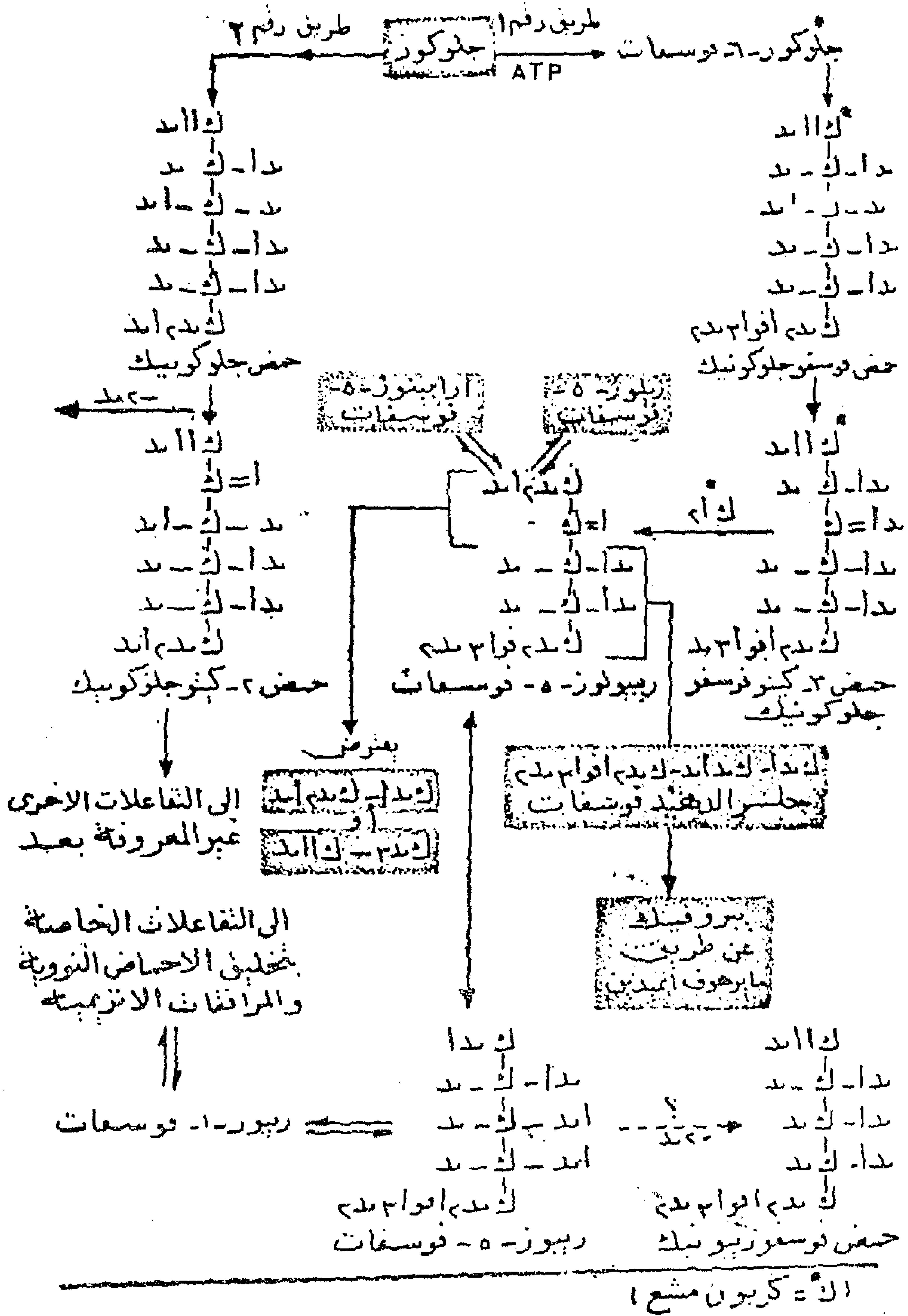
وهناك من الأدلة مايثبت أن هذا الطريق هاماً فى التحولات الأيضيسة التى يقوم بها كثير من الكائنات الحية كما أنه الطريق الرئيسى للتحولات الأيضية الكربوايدراتية فى بعض الكائنات الدقيقة .

وقد تم التعرف على هذه الحقيقة باستعمال جزيئات سكر جلوكوز يحتوى على كربون مشع ((radioactive)) فى الذرة رقم (١) ثم متابعة تخمره بواسطة الكائنات المختلفة . ففى حالة البكتيريا *Leuconostoc sp* . التى تحول الجلوكوز إلى كحول ايثايل وإلى حمض لاكتيك وثانى أكسيد كربون ، أمكن متابعة الكربون المشع فى غاز ثانى أكسيد الكربون الناتج ، وليس فى جزيئات حمض اللاكتيك ، وأهمية هذا الطريق التأكسدى فى عمليات تحول الكربوايدرات الأيضية هو توفير السكر الخماسى (ريبوز) اللازم لتخليق الأحماض النووية أو المرافقات الأنزيمية اللازمة للخلية كما سنبين فيما بعد :

ويبين (شكل ١٠٧) طرق تكون سكر الريبوز وكذلك تكون المركب فوسفات جاسر الدهيد الهام والذى يتحول عن طريق نظام مايرهوف ايمبدين إلى حمض بيروفيك .

وتأكسد مركب جلوكوز–٦– فوسفات إلى حمض فوسفو جلوكونيك أمكن التيقن من حدوثه حتى فى الكائنات التى يسود فيها نظام مايرهوف ، ايمبدين لهدم الجلوكوز مثل خلايا الخميرة .

وقد اقترح حينئذ أنه بالرغم من أن الغالبية العظمى من الجلوكوز تهدم عن طريق دورة الجليكوليسيز إلاأن كمية قليلةمنه يمكنها أن تحول (shunted off) إلى حمض فوسفوجلوكونيك وذلك لأن المواد التى تنتج عن هذا الحمض تدخل فى تركيب مواد حيوية هامة للخلية . لذلك يطلق على هذا الطريق (شكل ١٠٧ — ١) اسم تحويله الفوسفات الأحادى monophosphate shunt . وكما هو واضح من (شكل ١٠٧ — ١)فإن هـذا الطريق يتطلب فسفرة الجلوكوز الذى يتأكسد فيما بعد متحولا إلى حمض فوسفوجلونيك (حمض جلوكونيك — ٦ — فوسفات) . والمركب الأخير يتأكسد مرة ثانية ليكون ٣ — كينوفوسفوجلوكونيك والذى يفقد جزىء (ك$أ_٢$) متحولا إلى ريبيولوز — ٥ — فوسفات ribulose - 5-phosphate . وذرة الكربون التى تفقد



شكل ١٠٧ : طرق التحولات الايضية للسكريات الخماسية Monophosphate shunt (طريق رقم ١) يبين التفاعلات التى تعرف بتحويلة الفوسفات الأحادى .

على صورة (ك ا$_{٢}$) هى الذرة رقم «١» من جزىء الجلوكوز المبتدىء به وقد أمكن التأكد من ذلك باستعمال النظائر المشعة كما سبق أن بينا .

والمركب ريبيولوز — ٥ — فوسفات يكون فى حالة توازن مع المركبات زيلوز — ٥ — فوسفات وكذا ريبوز — ٥ — فوسفات والمركب الأخير يعتبر ذو أهمية كبيرة نظراً لدخوله فى عمليات أيضية بنائية أخرى بالخلية . وهذا التوازن المذكور يسمح باستغلال السكريات الخماسية pentoses ويوفر عديد من المركبات التخليقية ، ولايضاح ذلك نذكر أن المركب ريبوز -٥- فوسفات له علاقة بتخليق الأحماض النووية المحتوية عليه ribose (RNA) nucleic acids وكذلك المركبات المعروفة بالنيكليوسيدات nucleosides والتى تدخل فى تركيب المرافقات الأنزيمية وغيرها كما سيلى فى مكان آخر من هذا الباب .

ويحتمل أيضاً إمكانية تأكسد الريبوز — ٥ — فوسفات إلى حمض فوسفوريبونيك phosphoribonic acid وأن هذا المركب يتأكسد ثانية ليكون مركب (٢ أو ٣ - كيتوفوسفوريبونيك) بطريق مماثل لأكسدة السكريات السداسية وتحولاتها إلى سكريات خماسية ، ونتيجة لذلك فإنه يمكن الحصول بهذا الطريق على مركبات تحتوى على أربع ذرات من الكربون وبالمثل يمكن أيضاً تكون مركبات تحتوى على ثلاث ذرات من الكربون وأخرى تحتوى على ذرتين وهكذا .

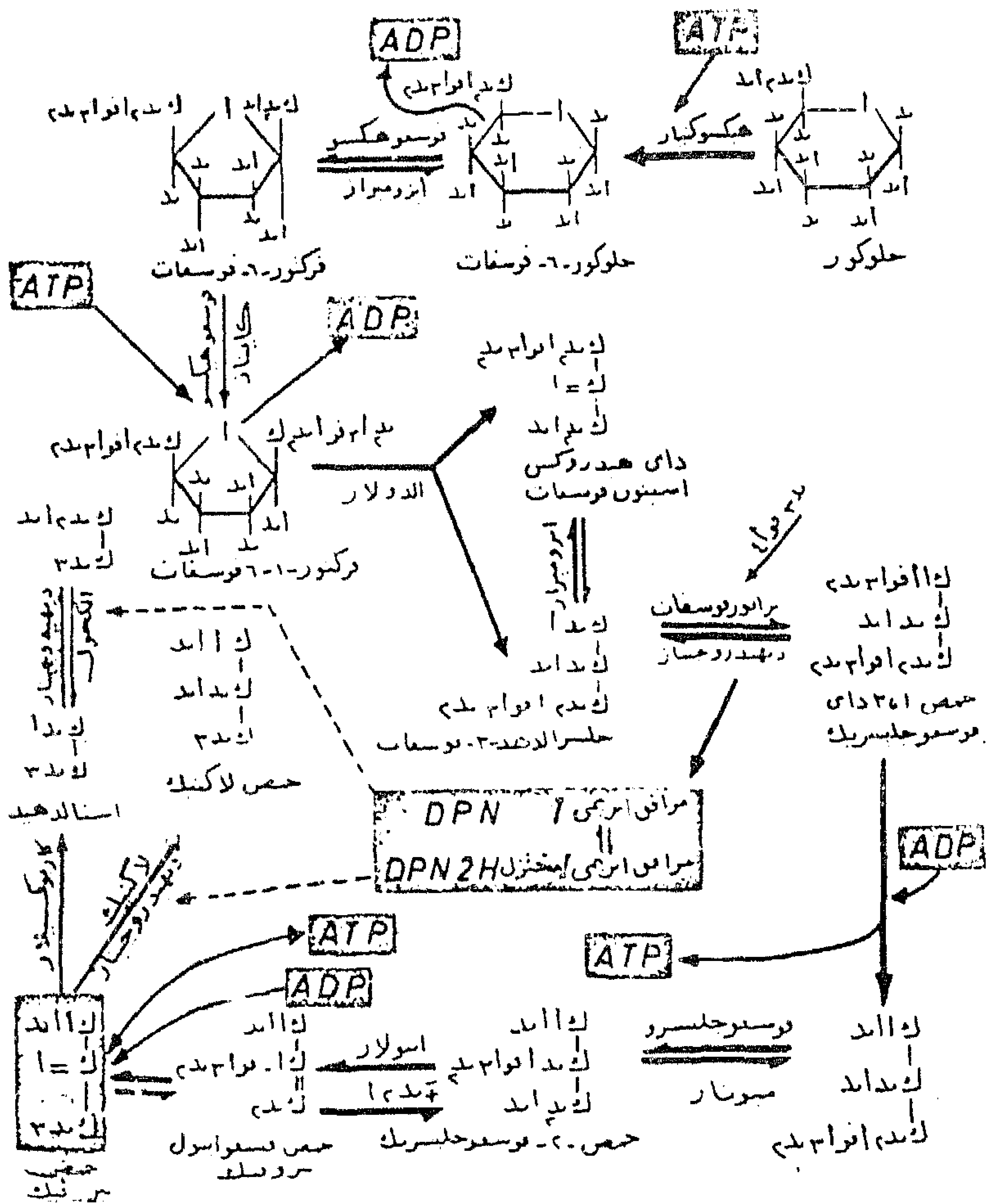
ومما يزيد احتمال حدوث مثل هذا الطريق بالبكتيريا هو حدوث انكسار للمركب ريبوز —٥ — فوسفات إلى مركب ذو ذرتين من الكربون يبدو أنه حمض الخليك وآخر ذو ثلاث ذرات كربونية هو ٣—جلسرالدهيد فوسفات. وبالرغم من التعرف على بعض التفاعلات التى يتضمنها هذا الطريق إلا أن الكثير منها لايزال مجهولا .

وعلى ضوء ماتقدم فإنه يمكن القول بأن الطريق رقم (١) (شكل ١٠٧) يتم فى كثير من الكائنات البكتيرية ويبدو أنه الطريق الرئيسى فى التحولات الأيضية للكربوايدرات فى بعض الكائنات البكتيرية وأهمها البكتيريا التابعة للجنس *Leuconostoc* والتى يمكنها تحت ظروف غير هوائية أن تكون (١ جزىء حمض لاكتيك + ١ جزىء كحول ايثايل + ١ جزىء ك$ا_٢$) من جزىء الجلوكوز . فإذا علمت ذرة الكربون الأولى من جزىء الجلوكوز (بكربون مشع) فان الكربون المشع يمكن متابعته فقط فى (ك $ا_٢$) وليس فى الكحول أو حمض الخليك . وإذا بدأ التخمر باستعمال جلوكوز معلم (lbled) فى ذرتيه رقم « ٣ » ، « ٤ » فانه لا يمكن متابعة الكربون المشع فى ثانى أكسيد الكربون الناتج ولكنه يظهر فى جزىء حمض اللاكتيك (الذرة رقم « ٤ ») أو فى كحول الايثايل (ذره رقم « ٣ ») . وهذا لا يحدث فى التفاعلات الخاصة بنظام مايرهوف امبدين ، الأمر الذى يؤيد سيادة طريق تحويله للفوسفات الأحادية monophosphate shunt على الأقل فى هذه البكتيريا .

وفى حالة بعض الكائنات يمكن للجلوكوز أن يتأكسد إلى حمض بدون أن تتضمن عمليات فسفرة (شكل ١٠٧ — ٢) . ومن ضمن هذه الكائنات البكتيريا التابعة لجنس *Pseudomonas* حيث يمكن الحصول على مستخلصات خلوية يمكنها أكسدة الجلوكوز غير المفسفر إلى حمض جلوكونيك علاوة على قدرتها على أكسدة الجلوكوز المفسفر أيضاً إلى فسفو جلوكونيك . وقد أمكن فصل الإنزيمات الخاصة لكل حالة وأمكن معرفة أن حمض الجلوكونيك المتكون من الجلوكوز غير المفسفر ، يتحول إلى حمض ٢ — كيتو جلوكونيك والذى يتكدس بالبيئة . والمركب الأخير لا يتأكسد ولا يتحول إلى مركبات أخرى أو قد تكون تفاعلاته الأخرى لا زالت مجهولة وبذلك لا يمكن الحكم على أهمية هذا الطريق للخلايا .

ونظراً لأهمية طريق مايرهوف ايمبدين فى هدم الجلوكوز ، غير هوائياً فالأمر يقتضى مناقشتها بشيء من التفصيل .

تتميز خلايا الخميرة والبكتيريا وكذلك خلايا العضلات الحيوانية بهـدم سكر الجلوكوز غير هوائياً وتحويله إلى حمض بيروفيك ويشمل هذا النظام مجموعة من التفاعلات الانزيمية المختلفة المبينة (بشكل ١٠٨) والآتى تفصيلها :



شكل ١٠٨ : الخطوات المختلفة لتخمر سكر الجلوكوز بواسطة خلايا البكتيريا وخلايـا الخميرة وخلايا الأنسجة الحيوانية (نظام مايرهوف ايمبدين) .

١ — يبدأ هذا النظام بحدوث تفسفر لجزيئات الجلوكوز ليتحول إلى جلوكوز — ٦ — فوسفات ويساعد فى هذا التفاعل انزيم الهيكسو كانيــاز الذى ينقل مجموعة فوسفورية من المركب ادينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) إلى جزيئات الجلوكوز عند ذرة الكربون رقم « ٦ »

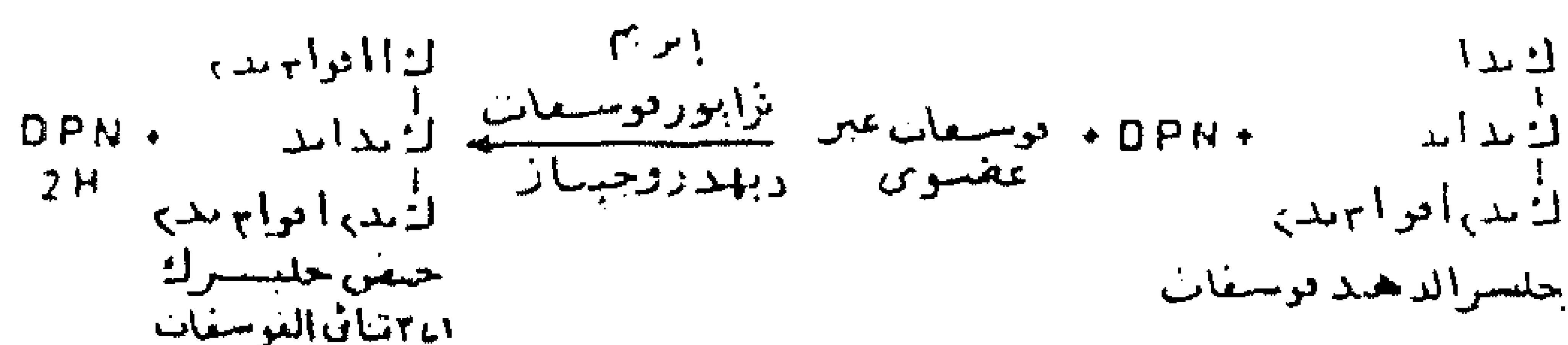
٢ — المركب جلوكوز — ٦ — فوسفات الناتج يتحول نتيجة لتغيير فى تركيبه الحلقى إلى مركب آخر يعرف باسم فوكتوز — ٦ — فوسفات ويساعد فى هذا التغيير نوع من الأنزيمات يعرف باسم فوسفوهيسكوز ايزاميراز phosphohexose isomerase

٣ — تضاف مجموعة فوسفورية أخرى إلى المركب فوكتوز — ٦ — فوسفات متحولا إلى فوكتوز ١ — ٦ — فوسفات ويساعد فى هـذا التـفاعـل نوع آخر من أنزيمات الفسفرة يعرف باسم فوسفو هيكسوكانياز phosphohexokinase والذى يقوم بنقل مجموعة فوسفاتية من جزىء ATP جديد إلى الذرة الكربونية رقم « ١ » من المركب — ٦ — فوسفات . ونتيجة للخطوات السابقة يتكون مـــركب هيكسوز ثنائى الفوسفـــات hexosediphosphate من جـــزىء الجلوكوز ، حيث يستهلك جزيئين من جزيئات مادة الأدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) وينطلق نتيجة لذلك جزيئين من الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP).

٤ — يعقب ذلك أن ينشق جزىء الهكسوز ثنائى الفوسفات مكونا مخلوطاً متوازناً من مركبين كل منهما يحتوى على ثلاث ذرات من الكربون ألا وهما مركب داى هيدروكسى اسيتون فوسفات dihdroxyacetone phosphate جلسر الدهيد فوسفــات glyceraldhyde phosphate . ويساعــد عــلى حدوث هذا الانشقاق الانزيم المعروف باسم الالدولاز aldolase . والمركبين الناتجين يتحول كل منهما إلى الآخر بمعنى أن يحدث بينهما توازن بمساعدة نوع معين من الانزيمات المعروفة باسم (isomerases) وحيث أنه فى عمليــات التخمر يتحول المركب جلسر الدهيد ـ فوسفات إلى مركبات أخرى كما هو

مبين (بشكل ١٠٨) ، فان انزيم الايزوميزار يحول مزيدا من المركب الآخر (داى هيدروكسى اسيتون فوسفات) إلى جلسر الدهيد فوسفات بمعنى ان كل مركب الهكسوز داى فوسفات يتحول فى النهاية إلى جلسر الدهيد فوسفات .

٥ — المركب جلسرالدهيدفوسفات يتأكسد إلى حمض جلسريك ١ ، ٣ ثنائى الفوسفات نتيجة لنشاط الأنزيم triosephosphate dehydrogenase الذى يتطلب وجود مرافقه الأنزيمى وهو[المرافق الأنزيمى I (DPN)] عند توفر الفوسفات غير العضوى . والمركب الناتج عن عملية الأكسدة هذه هو (حمض ١ ، ٣ داى فوسفو جلسريك (1.3 diphosphoglycericacid) الذى يتكون طبقاً للمعادلة التالية :



والمرافق الأنزيمى المختزل (DPN 2H) يمكن استعماله كمعطى للايدروجين فى التفاعلات الأخرى المحتاجة إلى إيدروجين كما هو مبين (بشكل ١٠٨ .)

٦ — يتحول حمض الجلسريك ١ — ٣ ثنائى الفوسفات الناتج إلى حمض جلسريك أحادى الفوسفات phosphoglyceric acid — 3 عن طريق فقده لأحد المجاميع الفوسفاتية واعطائها إلى حمض الأدينيليك adenylicacid أو الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) ويتكون بذلك جزىء الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) أو أدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) على الترتيب فى وجود انزيمات معينة . وبالتالى فاننا نجد أن هذه الخطوة من سلسلة التفاعلات لها مميزات ثلاث :

(ا) أكسدة الجلسرالدهيد فوسفات إلى حمض جلسريك مفسفر .

(ب) تكون مرافق إنزيمى مختزل يستعمل كمعطى للايدروجين فى التفاعلات المحتاجة اليه .

(ج) تحويل الفوسفات المعدنى إلى فوسفات عضوى فى صورة روابط غنية بالطاقة فى جزيئات (ATP) .

٧ — تنتقل مجموعة الفوسفات من الذرة رقم ٣ من جزىء حمض الجلسريك — ٣ — أحادى الفوسفات 3 -phosphoglyceric acid إلى الذرة رقم « ٢ » متحولا إلى حمض جلسريك — ٢ — أحادى الفوسفات 2- phosphoglyceric acid . ويساعد على هذا الانتقال انزيما يعرف باسم phosphoglyceromutase .

٨ — يتحول المركب 2 - phosphoglyceric acid الناتج ، عقب فقده جزىء ماء إلى حمض البيروفيك الأينولى المسفر phosphoenol pyruvic acid ويساعد فى هذه العملية إنزيم يعرف باسم اينولاز enolase. ويتطلب هذا الانزيم مرافقات انزيمية مثل أيونات المغنسيوم أو المنجنيز أو الزنك إلا أنه يتوقف عن النشاط فى وجود الفلوريدات ، ومثل هذه الخاصية أمكن استغلالها فى دراسة هذا النظام . فاذا لقحت بيئة محتوية على سكر الجلوكوز بميكروب وأضيفت كمية من الفلوريدات ، فان سلسلة التفاعلات قد تتم إلى تكوين حمض الفسفوجلسريك فقط وهذا المركب يتكدس بالبيئة ويمكن التعرف عليه .

٩ — تنتقل مجموعة الفوسفات من المركب phosphoenol pyruvic acid إلى حمض الأدينيليك (أدينوسين أحادى الفوسفات AMD) أو إلى جزىء أدينوسين ثنائى الفوسفات ويتكون بذلك جزىء أدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) أو أدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) جديد على الترتيب ، ومركب آخر هو الصورة الأنيولية من حمض البيروفيك . وحيث أن الصورة الأنيولية

من هذا الحمض تكون فى حالة توازن كيماوى مع الصورة الكيتونية منه بدون تدخل إنزيمى فان الصورة الكيتونية تكون هى السائدة دائماً .

ومما سبق يتضح أن لكل جزىء جلوكوز يهدم عن طريق غير هوائى يستهلك جزيئين من الفوسفات فى صورة (ATP) وينتج عن ذلك أربع جزيئات (واحدة لكل جزىء من حمض ١ ، ٣ داى فوسفو جلسريك ، وواحد لكل جزىء من حمض البيروفيك الأنيولى المفسفر) .

وفى حالة خلايا العضلات فان حمض البيروفيك المتكون يتحول إلى حمض اللاكتيك بمساعدة الانزيم lactic dehydrogenase الذى يعمل بطريق عكسى ومستغلا المرافق الانزيمى المختزل (DPN $_2$H) كمعطى للايدروجين اللازم للتفاعل :

من ذلك نرى أن أكسدة المركب جلسر الدهيدفوسفات واختزال حمض البيروفيك تكون مرتبطة ببعضها عو طريق المرافق الأنزيمى (DPN) الذى يعمل كناقل للايدروجين بين التفاعلين .

وفى خلايا الخميرة يتحول حمض البيروفيك إلى اسيتالدهيد عن طريق فقده لجزىء ثانى أكسيد كربون نتيجة لعملية decarboxylase بفعل أنزيم pyruvic decarboxylase . والاسيتالدهيد الناتج يختزل إلى كحول ايثايل بمساعدة الإنزيم alcohol dehydrogenase الذى يعمل بطريق عكسى مستغلا أيضا المرافق الأنزيمى المختزل(DPN $_2$H)بطريقة مشابهة لتكوين حمض اللاكتيك فى خلايا العضلات .

وقد لوحظ أن غالبية البكتيريات لا يمكنها هدم الجلوكوز غير هوائى فى غياب الفوسفات مما يدل على أن مثل هذه السلسلة من التفاعلات تعنى تكوين حمض البيروفيك تحدث أيضاً بالبكتيريا . وبالرغم من ذلك فانه لم تعزل إلى الآن الإنزيمات الخاصة بفسفرة الجلوكوز من خلايا البكتيريا وقد

وجد حديثاً أن البكتيريا *E. coli* يمكنها أن تخمر مركب الفركتوز ثنائى الفوسفات مكونة نواتج تفاعل مشابهة تماماً لتلك الناتجة عن تخمير سكـــر الجلوكوز مما يدل على وجود أنزيمات الفسفرة بهذه الخلايا ، وعلاوة على ذلك فإنه عند تخمير الجلوكوز تستهلك كمية من الفوسفات المتواجدة بالبيئة ، وعند اضافة فلوريدات الصوديوم إلى البيئة ، كما سبق أن بينا ، فانه يمكن عزل حمض الفوسفو جلسريك من البيئة كناتج نهائى نتيجة لتوقف أنزيم الأنيولاز .

كل هذا قد يبين أن سلسلة التفاعلات السابق وصفها والتى تتم بخلايـــا الحميرة وخلايا العضلات تحدث أيضاً بخلايا البكتيريا *E. coli* . وباستعمال الطرق المختلفة للحصول على الأنزيمات المدرجة فى دورة التفاعلات الخاصة بنظام مايرهوف ايمبدين من خلايا *E. coli* ، أمكن التعرف على نشاط الأنزيمات والمرافقات الأنزيمية التالية فى مثل هذه الخلايا : (انزيم الالدولاز وأيزوميراز وجلسر الدهيد فوسفات دهيدروجيناز وفوسفو جلسر وميوتاز واينولازولاكتيك دهيدروجينازو DPN والايدينوسين ثلاثى الفوسفات) .

انطلاق الطاقة :

ان تكوين حمض البيروفيك من سكر الجلوكوز عن طريق دورة مايرهوف ايمبدين يقتضى انطلاق طاقة تكون ميسرة للخلايا لأغراض نموها المختلفة . وهذه الطاقة يمكن للخلايا من استغلالها فى عمليات البناء وغيرها من العمليات الحيوية اللازمة للخلية وتيسر هذه الطاقة نتيجة لتكسير الروابط الفسفورية المختلفة : ومحتويات الروابط الفسفورية من الطاقة تختلف باختلاف نوع الرابطة المحتوية عليها . فمثلا الرابطة الأسترية من الفوسفات مثل تلك المتواجدة فى المركب هيكسوز ثنائى الفوسفات (ـ ك يد $_٢$ ا فو ا $_٣$ يد $_٢$) ينطلق عنها كمية من الطاقة (٣٫٠٠٠ سعر / جرام جزىء (تكون أقل مـــن تلك الناتجة عند تكسير الروابط الأنيولية من الفوسفات مثل تلك المتواجدة فى

حمض البيروفيلك الأنيولى المفسفر (ـــ ك ا فو ا ٣ يد ٢) حيث أن الأخيرة تعتبر رابطة أغنى فى محتوياتها من الطاقة اذ ينطلق عند تكسيرها مايقرب من ١٢,٠٠٠ سعراً / جرام جزىء .

من ذلك نرى أن الجلوكوز يتفسفر على درجات منخفضة من الطاقة إلى مركب الهكسوز ثنائى الفوسفات وأن هذه الطاقة تزداد باستمرار التفاعلات لتعطى فى النهاية روابط غنية بالطاقة فى حمض البيروفيلك الأنيولى المفسفر .

ومن المعروف أن الطاقة لا تستحدث من العدم وأن كل من حمض الفوسفوجلسريك وحمض البيروفيلك الأنيولى المفسفر يحتوى على روابط غنية بالطاقة . وحيث أن طاقة المركب الأول تتوزع على كل الجزىء فاننا نجد أن الطاقة بالمركب الثانى تكون مركزة فى الرابطة الفوسفورية .

ويتكون اثناء هذه الدورة رابطة فوسفاتية أخرى غنية بالطاقة وهى التى تنشأ أثناء أكسدة المركب جلسر الدهيد فوسفات فى وجود الفوسفات المعدنى (الخطوة رقم ٤) .

فاذا استعرضنا سلسلة التفاعلات السابق وصفها من ناحية تكون الروابط الفسفورية (شكل ١٠٩) فاننا نرى أن عملية فسفرة الجلوكوز مبدئياً لتكون هيكسوز ثنائى الفوسفات تقتضى استعمال جزيئين ATP . وأن جزىء الهيكسوز ثنائى الفوسفات ينقسم فيما بعد ليكون جزيئين من مركبات ثلاثية الكربون ومفسفرة triosephosphate كل منها يتحول إلىجزىء حمض بيروفيلك مع انفصال جزيئين من ATP بمعنى أن جزيئين ATP تلزم لبدء دورة التفاعلات التى تنتج عنها أربع جزيئات ATP .

ان الروابط الفسفورية فى جزىء ATP تعتبر روابط غنية بالطاقة ويبدو أن ATP تعتبر الصورة التى تخزن بها الطاقة بالخلايا لحين الحاجة اليها .

ومن المعروف أن العمليات البنائية بالخلية تتطلب طاقة يمكن التحصل

عليها من التفاعلات التى تحدث بين المركبات الوسطية المفسفرة والتى تنتج من تفاعلها مع جزيئات ATP الناتجة من عمليات التخمر الهوائى (الجليكوليسير glycolysis) ويمكن حينئذ النظر إلى هذه الدورة بأنها عملية استهلاك للجلوكوز والفوسفات على مستوى منخفض من الطاقة محولة الطاقة الناتجة إلى روابط فوسفورية غنية با طاقة تخزن بالخلية أو تستعمل لاستهلاك مزيد من الجلوكوز أو فى العمليات البنائية الأخرى المحتاجة اليها .

جلوكوز

فركتوز ١-٦ فوسفات

٢(٣-فوسفوجلسرالدهيد)

٢ H_3PO_4

٢(١،٣-داى فوسفوجلسريك)

٢(ATP)

٢(ATP)

٢(حمض الإينول بيروفيك المفسفر)

٢(حمض بيروفيك)

شكل ١٠٩ : طرق استغلال وتكوين روابط الفوسفات الغنية بالطاقة نتيجة لتخمر جزء واحد من سكر الجلوكوز (نظام مايرهوف ايمبدين) .

وتختلف البكتيريا عن خلايا الخميرة أو خلايا أنسجة العضلات فى الطرق التى تتخلص بها من حمض البيروفيك الناتج عن دورة الجليكوليسيز باعتباره

ناتج يأتى فى المرتبة الثانية بعد الطاقة . ولمناقشة تفاصيل التخمرات البكتيرية يهمنا أن نعرف الطرق التى تتبعها البكتيريات المختلفة فى التخلص من حمض البيروفيك حيث أنه فى بعض الحالات تؤدى تفاعلات التخلص من هذا الحمض إلى انتاج مزيد من الطاقة .

شكل ١١٠ : التفاعلات المختلفة لحمض البيروفيك .

تفاعلات حمض البيروفيك :

حمض البيروفيك الناتج من عمليات هدم الجلوكوز (سواء ذلك الناتج عن طريق الجليكوليسيز أو الذى ينتج مختلطا مع مركب آخر نشط يحتوى على ذرتين كربون عن طريق تحويله الفوسفات الأحادى يعتبر مركزاً لعدة تفاعلات أيضية أخرى تقوم بها الخلايا عن طريق تفاعلات مختلفة (شكل ١١٠).

من الملاحظ أن هناك خمس طرق رئيسية يهدم عن طريقها حمض البيروفيك وهى تتلخص فيما يلى :

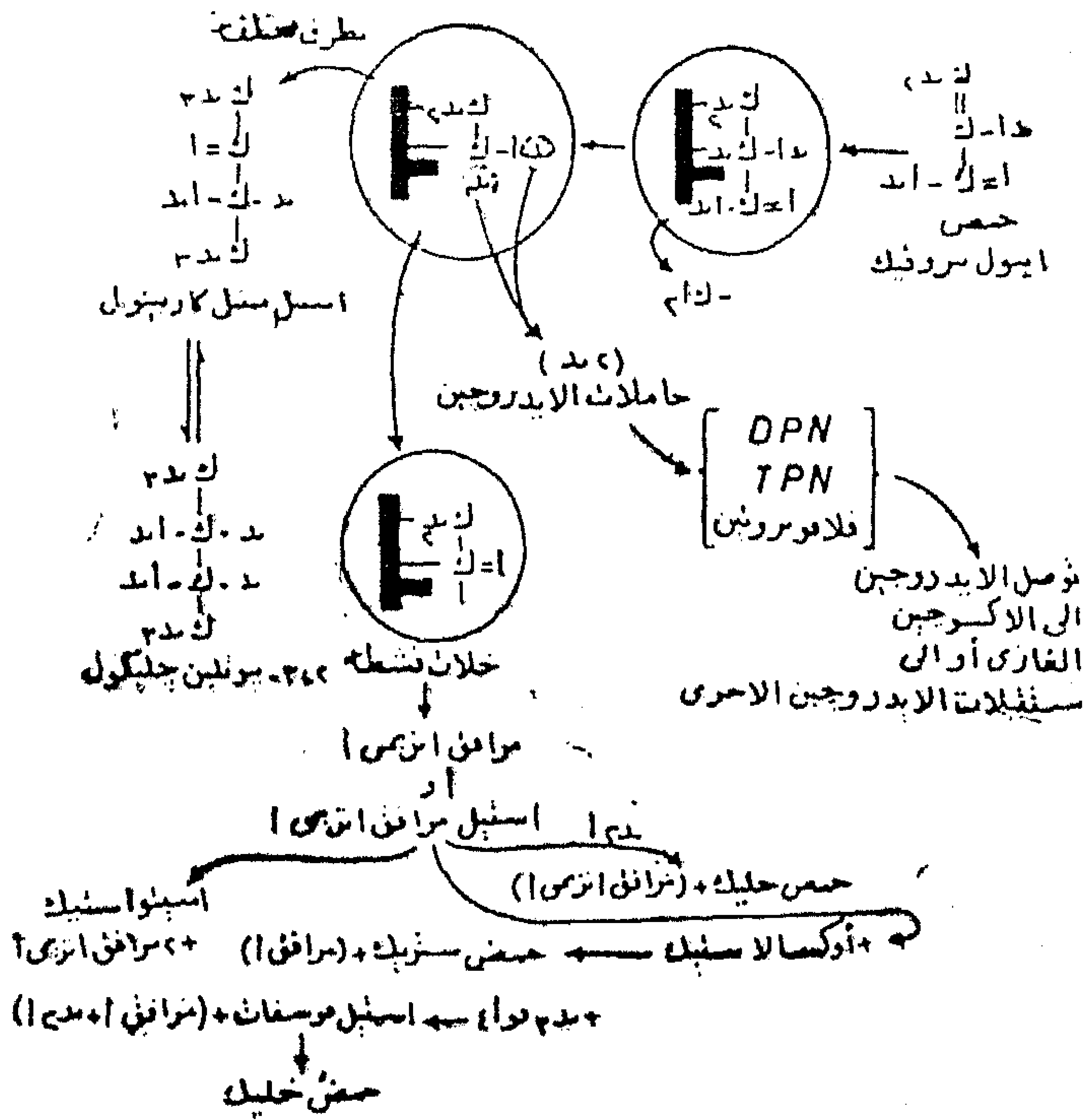
الطريقة الأولى : تختزل حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك ويقوم بهذا التفاعل أنزيم يعرف باسم lactic dehydrogenase وفى حالة الظروف غير الهوائية فان الهيدروجين اللازم يتحصل عليه من المرافق الأنزيمى المختزل (DPN 2H) الناتج من عملية الجليكوليسيز .

الطريقة الثانية : يثبت بجزىء حمض البيروفيك جزىء (ك ا٢) عن طريق عملية carboxylation ليتكون منه حمض أوكسالاستيك بمساعدة الأنزيم oxalacetate decarboxylases ويبدو أن هناك أكثر من أنزيم واحد من هذا النوع . والمركب الناتج من هذا التفاعل يعتبر أحد المركبات الوسطية فى دورة حمض الستريك .

الطريقة الثالثة : ينفصل جزىء (ك ا ٢) عن حمض البيروفيك نتيجة لعملية decarboxylation ليكون مركب وسطى نشط يتكون من ذرتين من الكربون كما يتبين من (شكل ١١١). من المعروف أن الصورة الانيولية من حمض البيروفيك يمكنها أن تدمص على البروتين الأنزيمى وينفصل (ك ا ٢) تاركا مركباً وسطياً ذو ذرتين من الكربون يظل متصلا بالبروتين الانزيمى . وهذا المركب الوسطى يمكن أن يتكدس منه جزيئين ليكون المركب

المعروف استيل مثيل كاربينول . ولكن فى الأحوال العادية تنفصل منه أيضا ذرتين ايدروجين تنتقل إلى حوامل ايدروجينية مثل DPN أو TPN أو الفلافوبروتين . المركب المؤكسد المتبقى والذى يظل متصلا بالبروتين الأنزيمى يدخل فى تركيب المرافق الأنزيمى « ا » (coenzyme A) والأخير يتحول إلى الصورة الأستيلية (acetyl coenzymeA) والذى يتدخل فى مجموعة من التفاعلات الأخرى التى من شأنها تخليق الأحماض الدهنية (شكل ١١١).

والنتيجة النهائية لهذه الطريقة هو أن حامض البيروفيك يتحول إلى مركب وسطى ذو ذرتين من الكربون ويحتمل أن يتكون مركب معقد منه مع الأنزيم. ومن المعروف أن مثل هذه التفاعلات تتطلب فيتامين « ب ١ » ولكن فى



شكل ١١١ : تفاصيل بعض التفاعلات المعدنية للتحولات الأيضية لحمض البيروفيك . لاحظ طرق تكون التركيبات النشطة والمرافق الانزيمى (طريقة رقم ٣ شكل ١١٠) .

بعض الكائنات يبدو أن هذا المركب يتحد ببعضه مكوناً استيل مثيل كاربينول المعروف أحيانا باسم (acetoin) واختبار تكون هذا المركب الأخير نتيجة لتخمر الجلوكوز يكشف عليه باختبار فوجس بروسكاور Voges Proskauertset يعتبر من الطرق التفريقية أو التصنيفية الهامة .

والمرافق الأنزيمى « ا » acetylated coenzyme A السابق الاشارة اليه يمكنه أن يترك سطح الأنزيم بعد تكونه . ويتفاعل مع الفوسفات مكونا مركب يعرف باسم استيل فوسفات وهذا يساعد فى تكوينه الأنزيم transacetylase ، والذى يتفاعل مع الأكسالاستيك ليتكون نتيجة لذلك حمض الستريك .

ومركب الاستيل فوسفات هذا يمكنه أيضاً أن ينتشر ويتحد جزيئين منه معاً ليكونا مركباً آخر هو حمض الأسيتواستيك acetoacetic cid (شكل ١١٠).

وهناك اقتراح بأن جزيئين من المرافق الأنزيمن (Co,A) فى صورتهما الأسيتيلية يتحدان ببعضهما ليتكون منهما جزىء واحد من حمض السكسنيك الا أن مثل هذا التفاعل غير مؤيد بعد .

تفاعلات حمض الاسيتواستيك :

هناك بعض الأنزيمات البكتيرية التى يمكنها أن تختزل حمض الأسيتواستيك إلى حمض البيتاهيدوركسى بيوتيريك والأخير يمكنه أن يتحول إلى كحول بيوتايل ، ولكن هناك من الأدلة على أن حمض على البيتاهيدروكسى بيوتيريك ليس مركبا وسطياً فى هذه التفاعلات .حيث أنه يعمل فقط كمادة أولية فى تجهيز كحول الأيزوبروبايل (شكل ١١٠).

وكذلك يمكن للمركب استيواستيك أن يفقد (ك ا ٢) ويتحول إلى اسيتون ويبدو أن الأسيتون الناتج بهذه الطريقة لا يختزل ليكون كحول ايزوبروبايل حيث أن الاختزال يحدث للاسيتواستيك قبل انفصال (ك ا ٢).

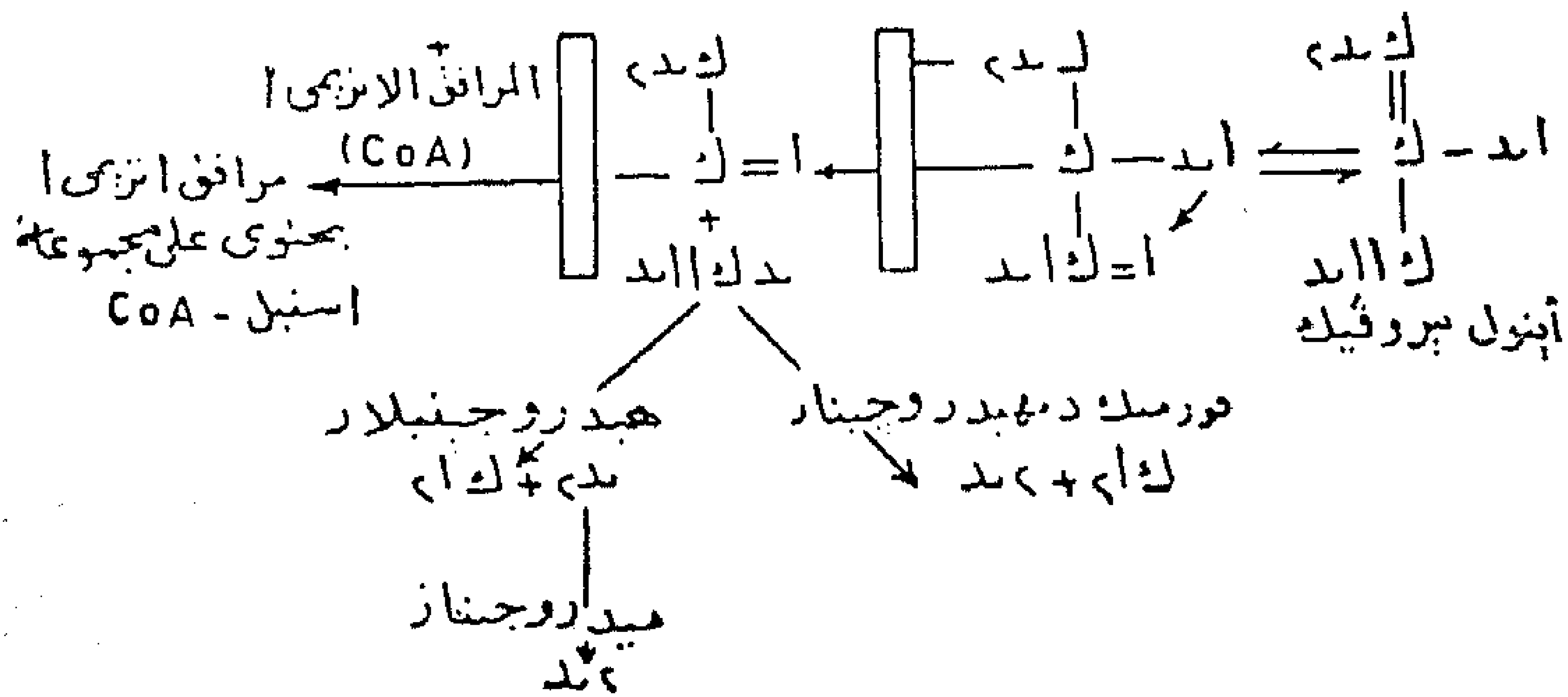
تفاعلات حمض السترّيك :

هذه التفاعلات تكون مايعرف بدورة حمض الستريك . وحدوث هذه الدورة بخلايا البكتيريا ظل من الأمور التى أثارت كثيراً من الجدل لفترة طويلة . ومما أثار كثير من الجدل والشك أن كثيرا من المركبات التى تحويها هذه الدورة غير قابلة للنفاذ خلال الجدر البكتيرية بالرغم من إمكان التعرف عليها بداخل الخلايا . ويمكن لها أن تتحول بالطريقة المبينة (بشكل ١١٠) . ومن أهم هذه التفاعلات تلك التى يتحول فيها حمض السكسنيك عن طريق فقده لجزىء (ك ا ٢) decarboxylation) إلى حمض بروبيونيك . وقد وجد أن هذا التفاعل يتم بمساعدة أنزيم يتواجد فقط فى أنواع البكتيريا التابعة لجنس *Propionibacterium* .

الطريقة الرابعة : وفيها يتحول حمض البيروفيك إلى اسيتالدهيد نتيجة لعملية decarboxylation . وهذه العمليـة قليلة الأهميـة فى البكتيريات ولكنها مهمة فى حالة خلايا الخميرة حيث أن ذلك هو الطريق الرئيسى لتكوين كحول الايثايل . وهناك بعض الأدلة على أن بعض البكتيريات يمكنها اختزال حمض الخليك محولة اياه إلى كحول ايثايل الا أنه لم يتم بعد دراسة تفاصيل هذه العملية ، فى حين أنه من المعروف أن الأسيتالدهيد المتكون بواسطة خلايا الخميرة يمكنه أن يتأكسد إلى حمض خليك .

الطريقة الخامسة : يمكن لجزىء حمض البيروفيك أن ينقسم إلى قسمين أحدهما عبارة عن جزىء مكون من ذرتين من الكربون (حمض خليك ك يد ٣ — ك ا ا يد) والثانى عبارة عن جزىء مكون من ذرة كربونية واحدة (حمض فورميك يد ك ا ا يد) وعادة يعرف هذا التفاعل باسم phosphorocalstic reaction ، ويتميز هذا التفاعـل بانتاج حمض الفورميك . والمـرافق الأنزيمى « ا » المحتوى على مجموعة أستيل (acetyl Co. A) يؤدى دوراً وسطياً فى هذا التفاعل وذلك فى وجود أنزيم يعرف باسم- acetytl

transphosphorylase ويتكون لفعل هذا الأنزيم مركب يعرف باسم acetylphosphate ، وقد اشتق اسم التفاعل المسمى phosphoroclastic من هذه العملية وكانت تعرف باسم hydroclastic قبل التعرف على دور الفوسفات بها .



وحمض الفورميك الناتج يمكنه أن يتأكسد إلى (ك ا $_٢$) وايدروجين والأخير يذهب إلى المركبات الحاملة للأيدروجين مثل DPN أو TPN أو (الفلافوبروتينات) ويحدث ذلك بفعل انزيم ديهيدروجيناز .

بعض الكائنات تحتوى أيضا على نوع من الانزيمات التى تعرف باسم الهيدروجيناز والتى يمكنها أن تنقل غاز الايدروجين إلى مواد حاملة للأيدروجين مجهولة غير متعرف على طبيعتها ، والايدروجين المنقول بهذه الطريقة يمكنه أن يتفاعل مع الأكسجين ليكون ماء أو قد يستعمل فى اختزال بعض المواد الأخرى مثل حمض البيروفيك محولا أياه إلى حمض لاكتيك ومن المقطوع به أنه إذا تكونت غازات أثناء عملية التخمر فانها تأتى من أكسدة حمض الفورميك ، ويشذ عن ذلك التعميم حالة واحدة فقط . ففى حالة تخمرات أنواع جنس *Clostridium* فانها تمتلك انزيما مشابها يمكنه تحويل حمض البيروفيك إلى acetyl - Co A + يد $_٢$ + ك ا $_٢$ مباشرة بدون تكون لحمض الفورميك كمركب وسطى .

وعموما فان حمض الفورميك لايمكن اعتباره من المخلفات المستغنى عنها بل يمكن له أن يدخل فى تفاعلات أخرى هامة مثل تلك التى يتحد فيها مع حمض الجليسين الأمينى ليتكون منهما حمض سيرين (فورميك + جليسين ← سيرين) والأخير قد يدخل فى تكوين البروتينات أو فى تكوين البيورينات وبذلك فهو يستخدم فى العمليات البنائية الخلوية .

مما سبق تبين لنا الخمس طرق التى يمكن أن يتحول عن طريقها حمض البيروفيك الناتج من عملية التخمر ولا حظنا أن لكل طريقة انزيماتها الخاصة والتى أمكن عزلها والحصول عليها فى صور نقية . كما أمكن التأكـد مـن طبيعة النشاط الأنزيمى فى عمليات التخمر لكل منها باستعمال النظائر المشعة . كل هذا لا يعنى اننا نعرف الآن كل شيء عن التحولات الايضية للكربوايدرات فى خلايا البكتيريا ولكننا إلى حد ما نكون بذلك قد تعرفنا على معظم التفاعلات الايضية للمواد الكربوايدراتية .

العمليات البنائية للكربوايدرات

إن كل ماسبق من تفاعلات كانت خاصة بالعمليات الهدمية للكربوايدرت . والخلايا البكتيرية أو الخلايا الحية عموما تستهلك الكربوايدرات لهدفين رئيسيين ، الأول : الحصول على الطاقة وقد ناقشنا ذلك بشيء من التفصيل . والثانى : لغرض تخليق بعض المواد التى تحتاجها الخلايا لبناء مواد معقدة تتركب منها أجسام الخلية نفسها .

ومن الحقائق الثابتة والواضحة أن البكتيريات ليست متشابهة فى الطرق الرئيسية التى تتبعها للحصول على الطاقة أو فى تكوين المواد اللازمة لبناء خلاياها .

ولبيان الطرق المختلفة التى تتبعها بعض الأنواع البكتيرية رأينا لغرض التسهيل وعدم التكرار إتخاذ رموز للمواد وللتفاعلات المختلفة وهى كما يلى :

ج ـ جلوكوز ، بيرو = بيروفيك ، (م١) = يرمز إلى المركب الوسطى المكون من ذرتين من الكربون والذى يتحول إلى خلات أو acetyl-- Co A.

(ج ـــ بيرو) = نظام مايرهوف ايمبدين

[ج ـــ بيرو + (مأ) = نظام تحويله الفوسفات الاحادى

⊐ =دورة حمض الستريك

(م ا) = مركب يحتوى على ذرتين من الكربون

(٤) = تكدس جزيئين من المركب ذو الذرتين الكربونيتين ليتكون منهما المركب اسيتواسيتات ، وما يعقبه من تفاعلات .

وبهذه الرموز يمكننا أن بين الآن التفاعلات التى يحدثها أى نوع بكتيرى باختصار :

١ — *Streptococcus faecalis*

(ج ـــ بيرو) ——→ حمض لاكتيك

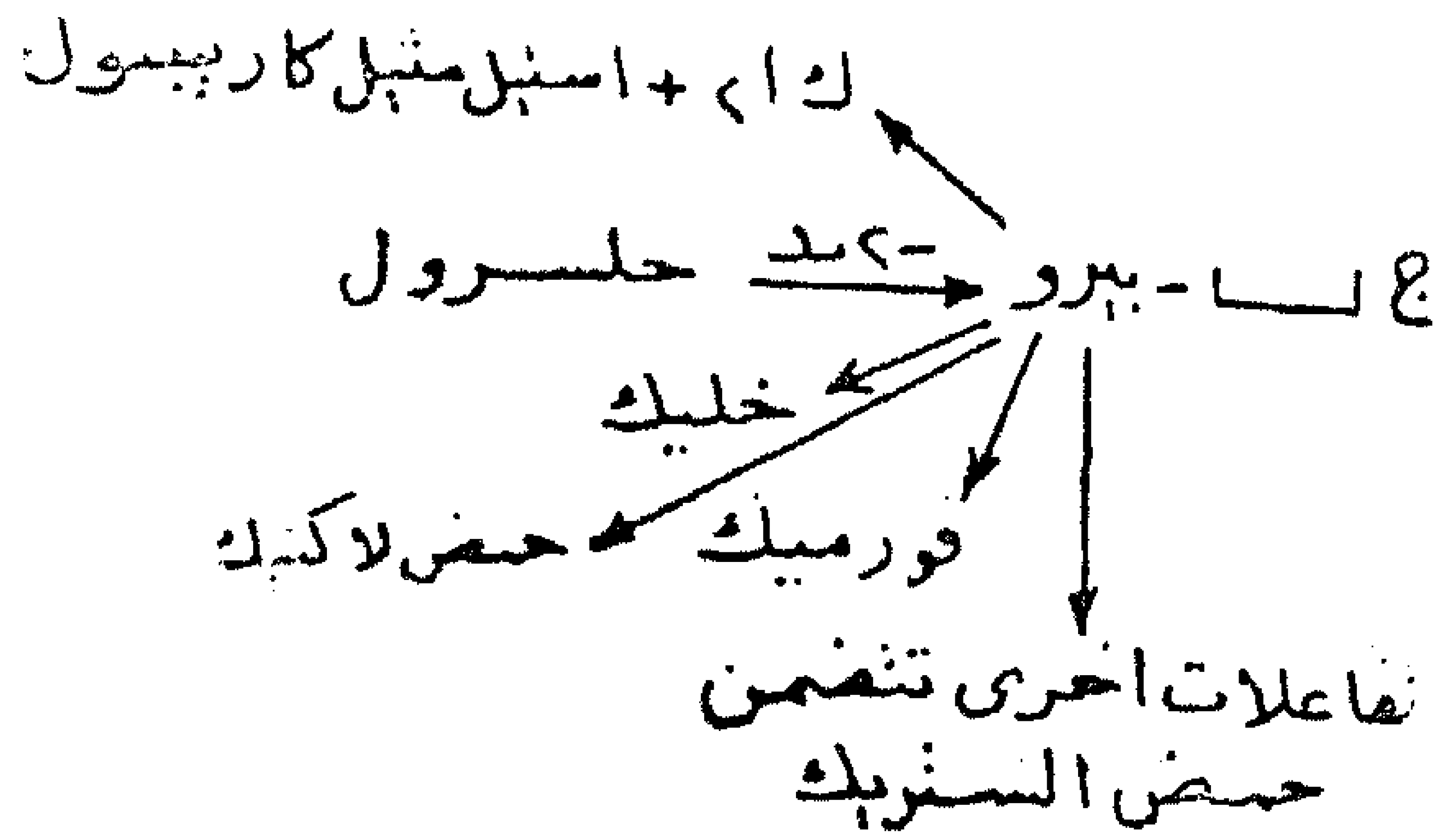
تقوم هذه البكتيريا بانتاج حمض اللاكتيك فى غياب الهواء تماما كما يحدث فى وجوده . وإلى عهد قريب كان يظن أن هذه البكتيريا لاتقوم إلا بالتفاعل المذكور ولكن وجد أنه يمكن أن تقوم أيضا بما يأتى من تفاعلات :

(ج ـــ بيرو) ← استيل ميثيل كاربينول

(ج ـــ بيرو) ← خليك + فورميك

جلسيرول ـــ ج ـــ بيرو ـــ حمض لاكتيك

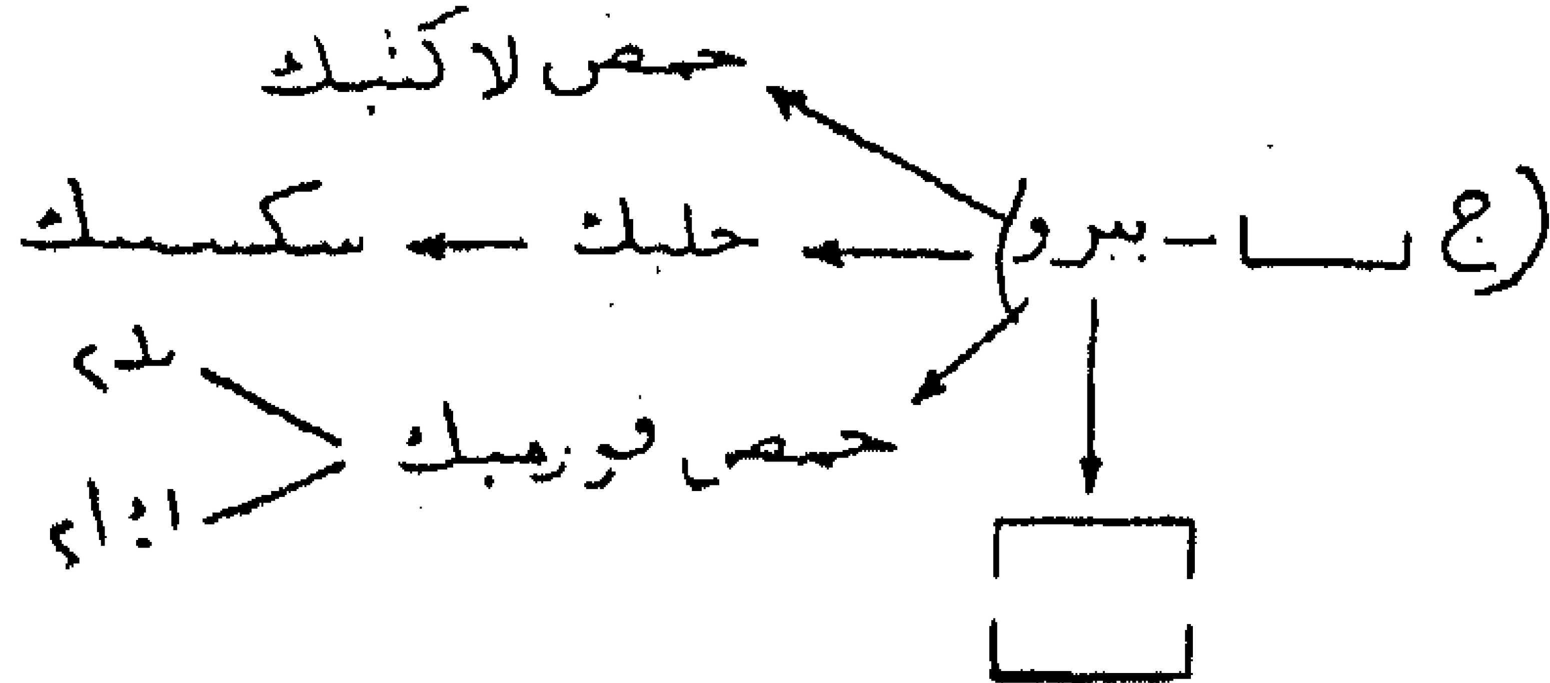
من ذلك ترى أن هذا النوع البكتيرى يقوم بالآتى :



٢ – *Leuconostoc mesenteroides*

(ج لـــ - بيرو) + ٢ (١٣) + ك ا٢

٣ – *Escherichia coli*



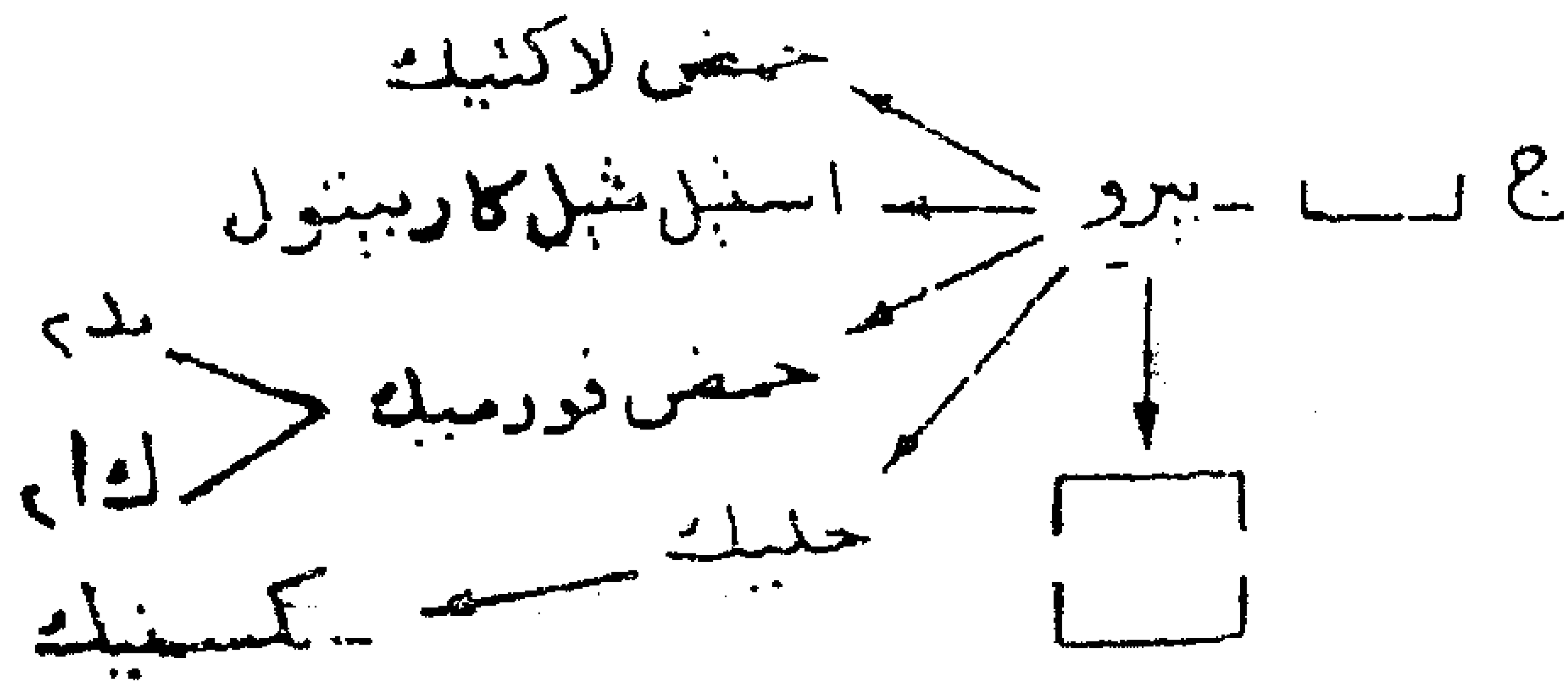
٤ – *Clostridium pasteurianum*

(ج لـــ - بيرو) ← (١٣) ← (٤)

٥ – *Aerobacter arogenes*

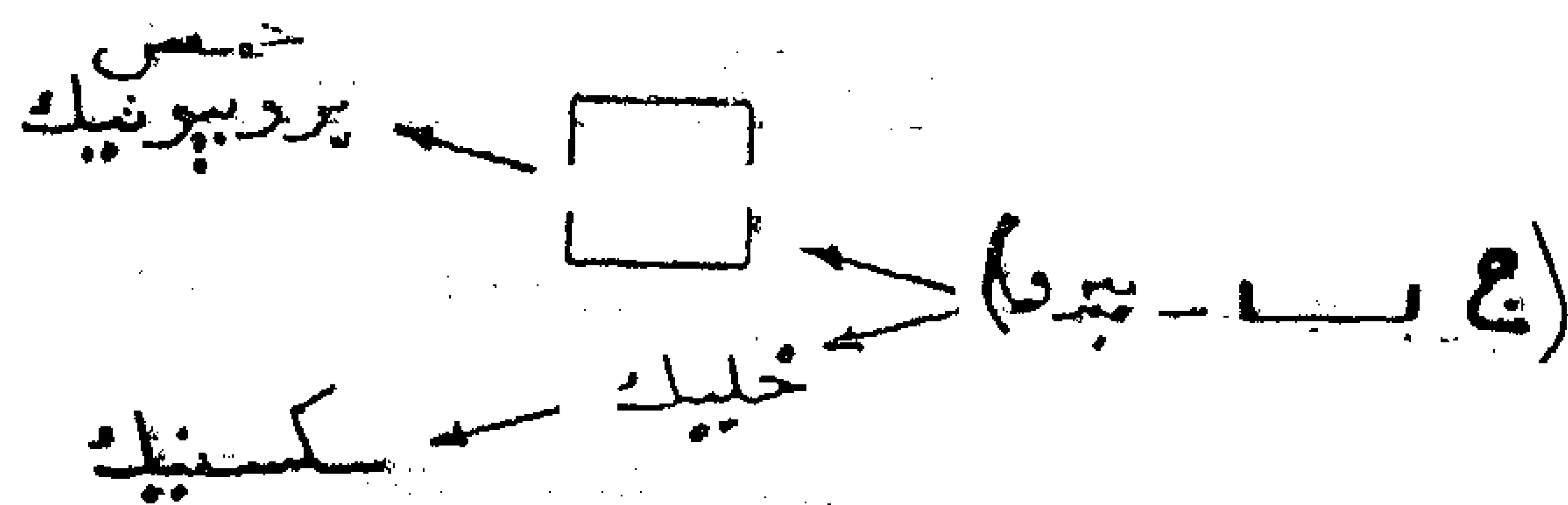
تشبه طرق *E coli* الا أنه ينتج مادة الاستيل ميثيل كاربينول التى يمكن الكشف عنها باختبار فوجس بروسكار Voges Proskauer ويتلخص هذ الاختبار فى إضافة قلوى قوى للمزرعة البكتيرية بعمر ٢٤ ساعة نامية فى بيئة محتوية على جلوكوز – بيتو ن . وفى حالة التفاعلات الموجبة لهذا الاختبار

يبدأ تكون لون أحمر عند سطح المزرعة متجها ببطء إلى أسفلها . واللون الأحمر المتكون هو نتيجة لتفاعل مادة الداى‌استيل ك يد٣ — ك ا — ك ا ـ ك ا ك يد٣ ، (والتى تتكون نتيجة لأكسدة مادة الاستيل مثيل كاربينول) مع مجاميع الجوانيدينو guanidino - groups التى تتواجد بالبيون . ولزيادة سرعة التفاعل يضاف كمية بسيطة من المواد المحتوية على هذه المجاميع مثل مادة الكرياتنين creatinine إلى المزرعة حيث يتم تكون اللون الأحمر بسرعـــة .

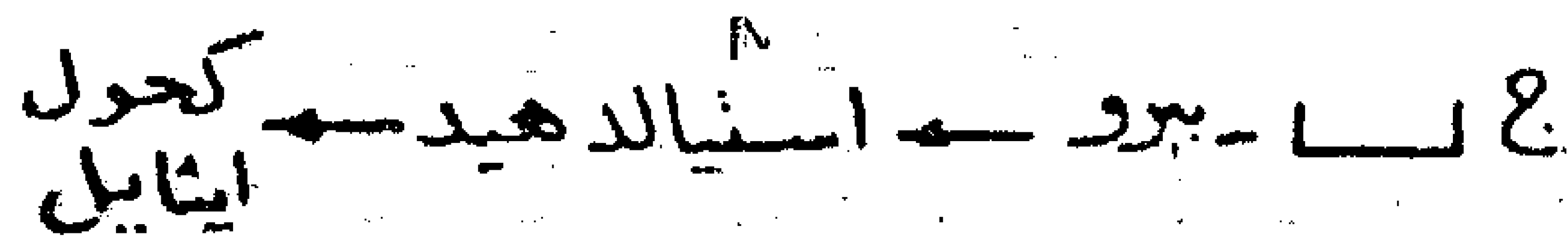


٦ — بروبيونيبا كتيريا *Propionibacteria*

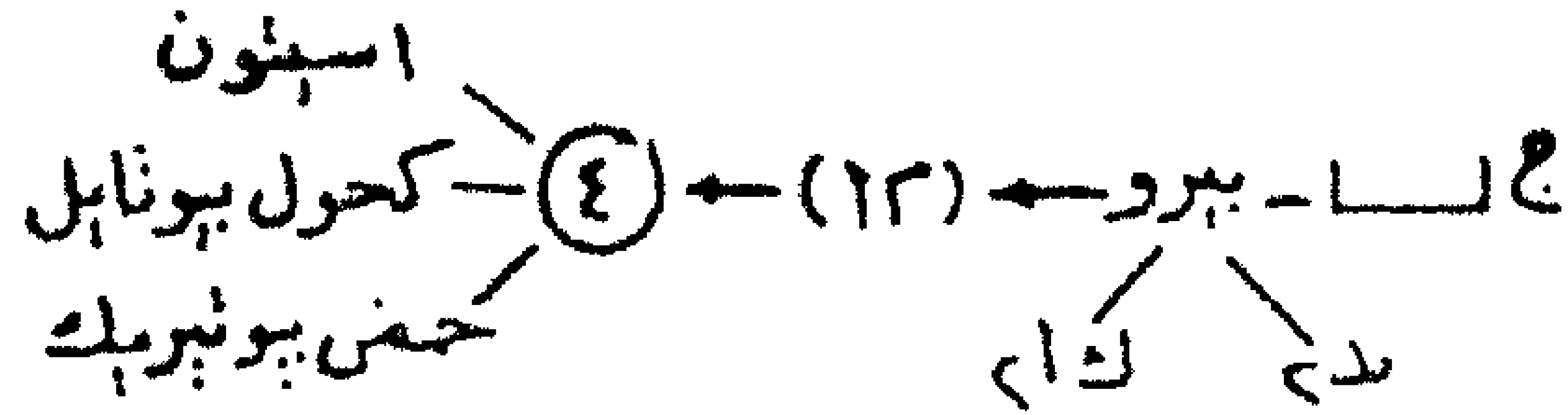
تعرف باسم بكتيريا حمض البروبيونيك حيث أنها تكون هذا الحمض نتيجة لتخميرها للجلوكوز . ومثل هذه البكتيريا يمكن عزلها من الجبن الجاف المعروف باسم Emmetaler .



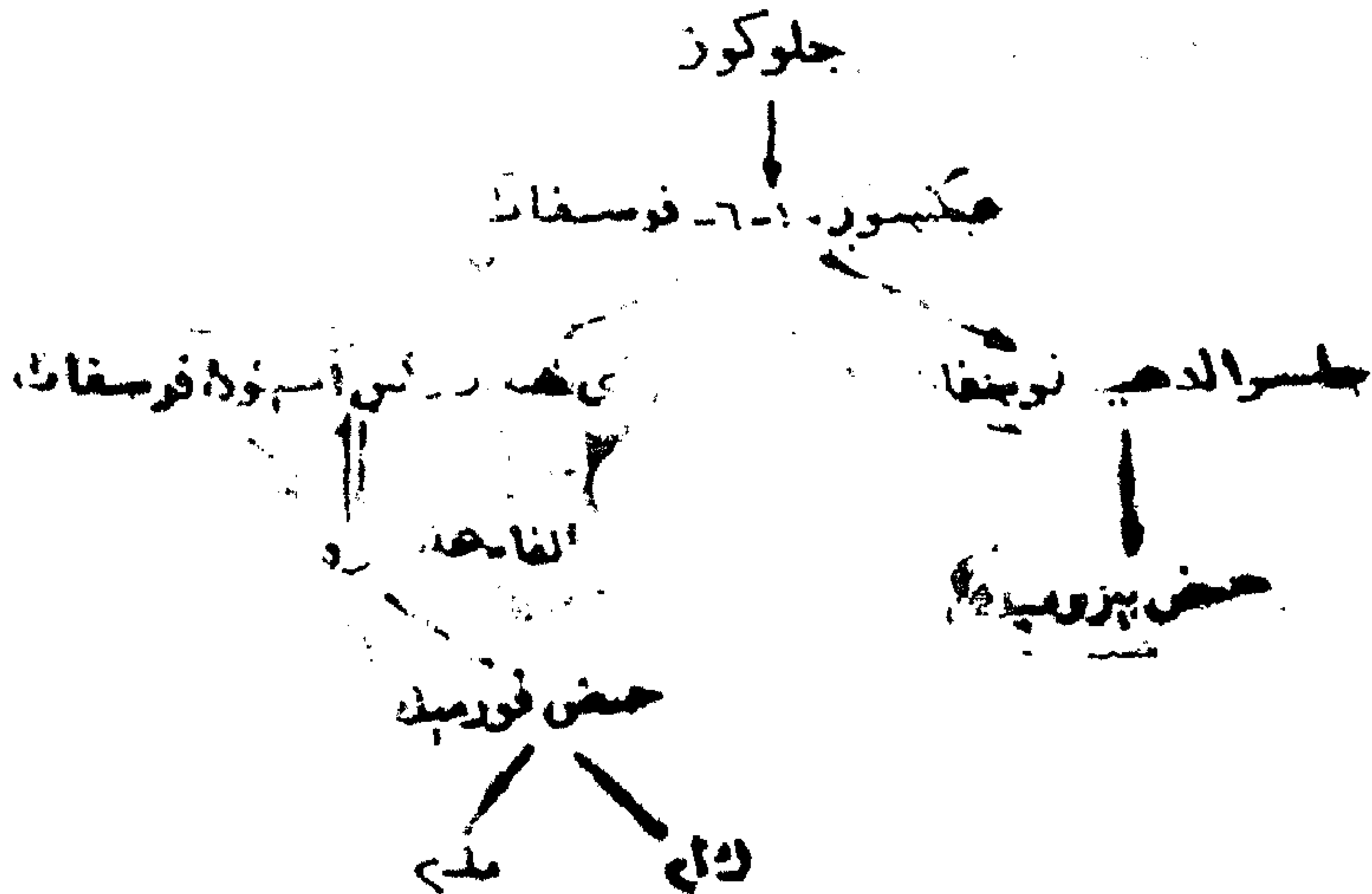
٧ — الخميرة yeast



٨ — *Clostridium acetobutylicum*



من الواضح أن البكتيريا *Cl. acetobutylicum* عندما تخمر حمض البيروفيك يتكون غازى الايدروجين وثانى أكسيد الكربون ، وحمض الخليك ، وآثار من حمض البيوتيريك وكلا من كحول الايثايل والبيوتايل وكذا مركب الاسيتون . والطريقة التى يتكون بها كحول الايثايل تختلف عن تلك الخاصة بالخميرة ، ففى هذه البكتيريا وفى بعض البكتيريات التابعة لمجموعة (coli - aerogenes group) يتكون كحول الايثايل عن طريق مركب Dihydroxyacetone phosphate الناتج من انقسام جزىء الهكسوزداى فوسفات الذى يمكنه أى يختزل إلى المركب الفاجلسر وفوسفات . والمركب الأخير يتحول إلى كحول ايثايل + حمض فورميك كما يلى :



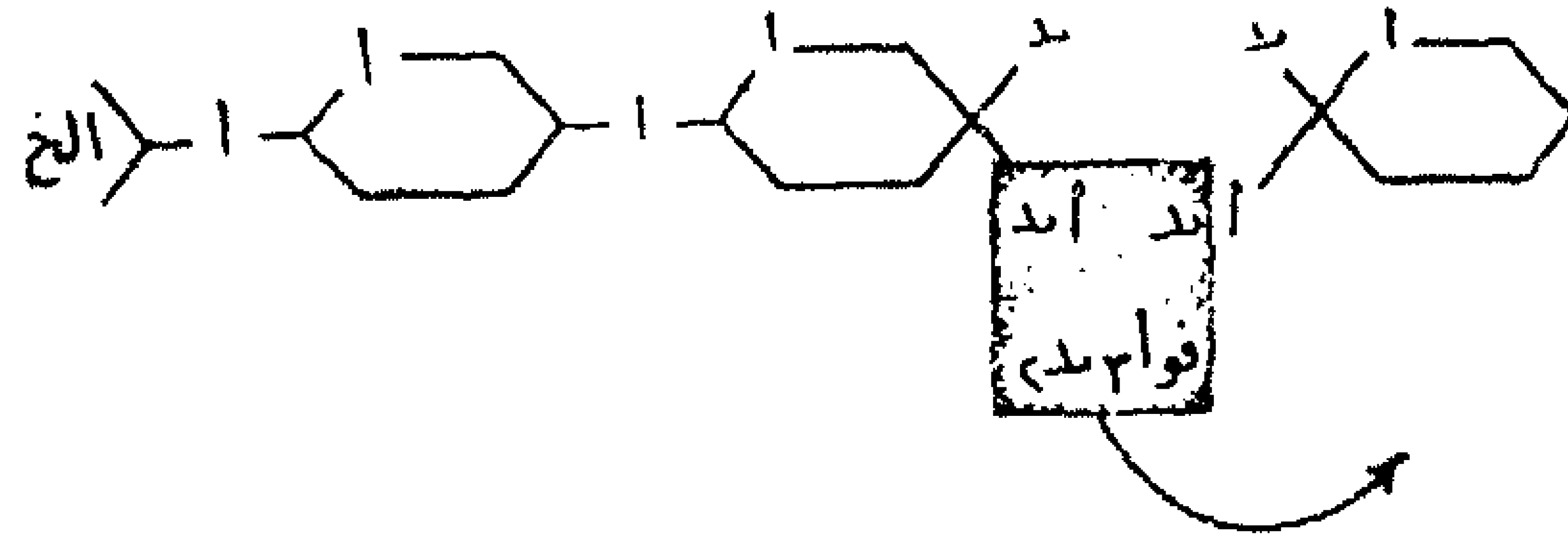
وتخمر الجلوكوز بالبكتيريا *Cl. acetobutylicum* يستغل فى الصناعة

لانتاج بعض المواد الهامة اقتصاديا مثل الاسيتون وكحول البيوتايل . فاذا تتبعنا تكون المواد المختلفة أثناء نمو هذه البكتيريا فى بيئة تحتوى على جلوكوز فاننا نجد أن تكونها يختلف باختلاف pH البيئة . ففى الأطوار الأولى من النمو عندما تنخفض درجة الـ pH بسرعة ملحوظة ، فانه يتكون كل من حمض البيوتيريك وحمض الخليك وغازى يد٢ ، ك أ٢ .وعندما تصل قيمة pH البيئة إلى مايقرب من ٥ر٤ فان كل من المركبين اسيتون وكحول البيوتايل تبدأ فى التكون . بمعنى أن ظهور المادتين الأخيرتين بالمزرعة يكون مصحوبا باختفاء كل من حمض البيوتيريك والخليك منها أو بمعنى آخر أن تكونهما يعمل على رفع قيمة pH المزرعة . ويبدو أن تكون الاسيتون أو كحول البيوتايل بالمزرعة يمثل عملية تعادلية حيث أنهما مادتين متعادلتان يتكونان فقط عندما تنخفض قيمة pH البيئة بدرجة قد تمنع نمو الخلايا . وتكون هاتين المادتين يشبه كثيرا طريقة تكون المركب استيل مثيل كاريبول بواسطة البكتيريا *Aerobacter aerogenes* وكذا تكون بعض الامينات أو الأحماض الأمينية بواسطة سلالات من البكتيريا *E.coli* حيث أن هذه المواد لا تتكون بالمزرعة الا عند انخفاض درجة الـ pH وأن تكونها يكون بمثابة عملية تعادلية .

تكوين عديدات التسكر Formation of polysoccharides

ان مركب جلوكوز — ٦ — فوسفات الذى يدخل فى مجموعة من التحولات والتى سبق أن اشرنا إليها فى (شكل ١٠٦) ، يمكنه أيضا أن يتحول إلى جلوكوز — ١ —فوسفات بمساعدة انزيم الفوسفوجلوكوميوتاز phosphoglucomutase الذى يستعمل المركب ١ ، ٦ داى فوسفو جلوكوز كمرافق انزيمى . وهذا المرافق الانزيمى يعمل بنفس الطريقة التى يعمل بها المركب ٢ ، ٣ داى فوسفو جليسريك كمرافق انزيمى للانزيم فوسفوجلسريك وميوناز phosphoglyceromutase .وجزيئات الجلوكوز — ١ —فوسفات الناتجة تضاف إلى سلاسل الجليكوجين أو النشأ المتكونة من وحدات الجلوكوز لتضيف

وحدة أخرى منه إليها . ويتم ذلك فى وجود انزيم من انزيمات الفسفرة phosphorlase . وينتج عن هذه العملية انطلاق مجموعة فسفور غير عضوية (نشا أو جيلكوجين + يدم فوا٤ ← جلوكوز — ١ — فوسفات) .
والنشا يتكون من وحدات الجلوكوز فى سلاسل مستقيمة فى حالة الاميلوز amylose أو بشكل سلاسل مستقيمة كالسابقة مرتبطة عن طريق روابط ١ — ٦ — الفاجلوكوسيدية فى حالة الاميلوبكتين amylopectin



شكل ١١٢ : رسم تخطيطى يبين ترتيب وحدات الجلوكوز فى سلاسل النشا أو الجليكوجين تتحد ببعضها عن طريق روابط ١ — ٤ الفاجلوكسيدية .

وترتب وحدات الجلوكوز فى حالة الجليكوجين فى سلاسل متفرعة متصلة بنفس النوع من الروابط . وفى حالة الاميلوبكتين والجليكوجين فإن فعل انزيم الفوسفوريلاز phosphorylase يعمل على السلسلة الاصلية حتى أمكنة التفرع فقط .

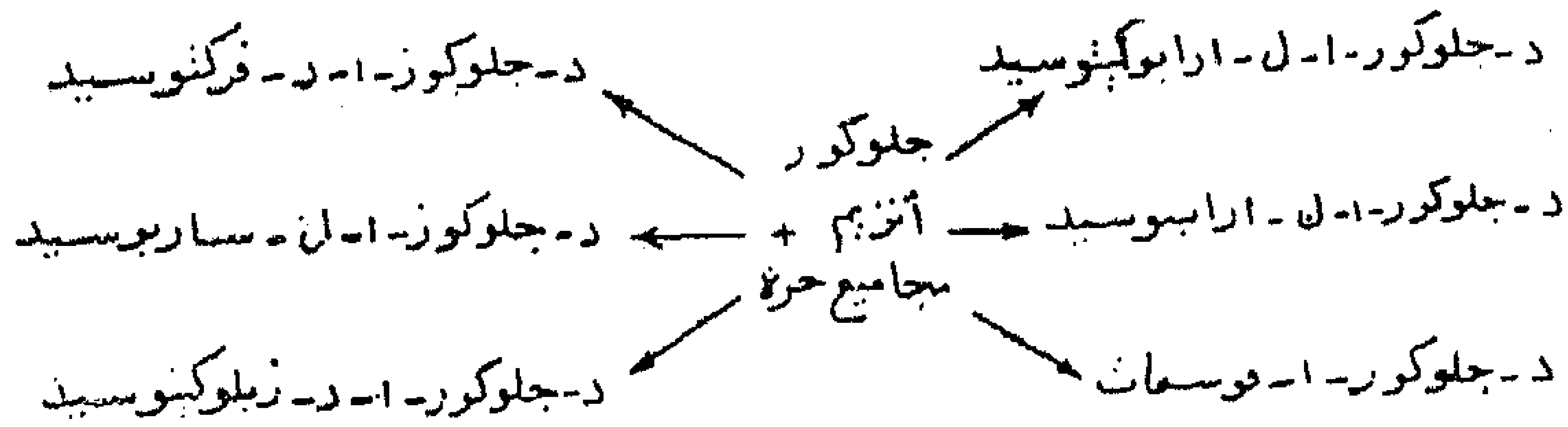
ومن المعروف أن فعل هذه الانزيمات يكون عكسيا فانه عن طريق فعلها يمكن للجليكوجين أو النشا أن تتكون أو تتحلل. ويبدو أن النشا أو الجليكوجين المخزن بالخلايا يكون محميا من النشاط الهدمى لهذه الانزيمات . فقد وجد أن خلايا الخميرة الغنية بالجليكوجين المخزن لاتخمره حتى فى غياب الجلوكوز عن البيئة ، إلا فى حالة حدوث اضرار للخلايا بطريقة معينة . كما أن البكتيريات قد تحتوى على انزيم يمكنه تحويل السكروز إلى جلوكوز — ١— فوسفات . وفركتوز (بطريقة عكسية) ويبدو أن مثل هذه التفاعلات تتم هكذا : جلوكوز

— ١ — فوسفات + انزيم ← فوسفات غير عضوى — جلوكوزانزيم .
جلوكوز — انزيم + فركتوز ← سكروز + انزيم .

والانزيم المسئول وهو sucrosephoshporylase يبدو أنه عامل وسيط بين الجلوكوز — ١ — فوسفات والمركبات الأخرى ، فمثلا :
جلوكوز — ١ — فوسفات + انزيم ← جلوكوز — انزيم + فوسفات سكروز
(د — جلوكوز — ١ — د — فركتوز) + انزيم ← جلوكوز — انزيم + د— فركتوز.

وهذا الانزيم يمكنه إذن أن يحدث تغيير أو تبادل حيث يمكن عن طريقه تحويل أى سكر ثنائى إلى آخر فعند تحضير مخلوط من الانزيم والجلوكوز — ١ — فوسفاتأو السكروز مع سكر الارابينوز فإنه يمكن الحصول على مركب جديد هو

د — جلوكوز — ا — ل — ارابينوسيد + فوسفات أو فركتوز .

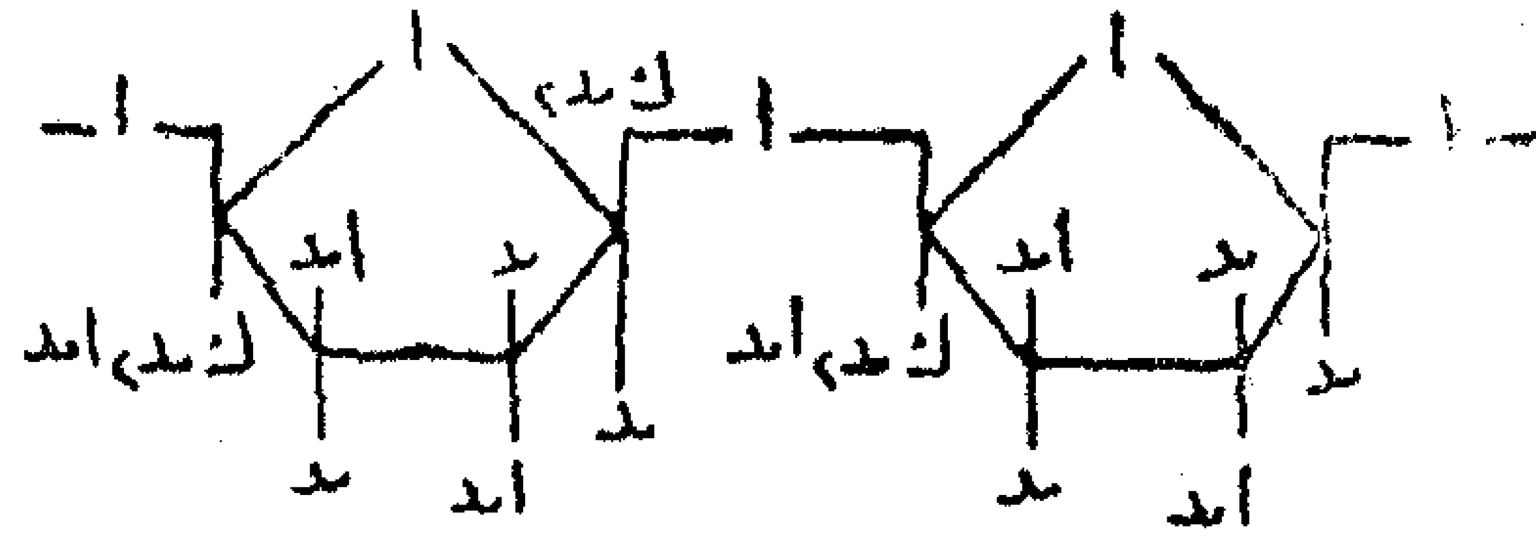


وهناك مجموعة أخرى من الانزيمات يمكنها أن تبدأ فعلها على السكريات الثنائية لتكوين عديدات التسكر من أحد السكرياتالأحادية فى حين أن السكر الأحادى الآخرينطلق فى حالة حرة ويلاحظ أن السكريات الفوسفاتية sugar-phosphate ليس لها دور ملحوظ فى هذه الطريقة . وعديدات التسكر المتكونة عن هذا الطريق تستخدم فى تكوين الأغلفة البكتيرية capules وقد سبق أن ناقشنا ذلك أو أنها تفرز خارجيا إلى البيئة على صورة صموغ gums أو مواد هلامية لزجة slimes .

تكوين الصموغ أو المواد اللزجة :

يعتبر باستير أول من لاحظ عمليات التخمر اللزجة Viscus fermentations والتى تحدث من بعض المحاليل السكرية (سكروز) وقد بين أن تكوين المواد اللزجة بهذه المحاليل يرجع إلى تلوثها ببعض الكائنات الدقيقة . وتعرف الآن عدة أنواع بكتيرية لها القدرة على تخليق مواد صمغية لزجة محبة للماء hydrophilic ، ومكونة كلية إما من الجلوكوز ان « ديسكتران » أو من الفركتوز «ليفان» .

فعند تنمية البكتيريا *Bac. mesentericus* و *Bac. snbtilis* فى بيئــة تحتوى على سكروز فإنه يتكون بالمزرعة المركب فركتوزان اللزج والذى يتركب من وحدات فركتوفيورانوز fructofuranose مرتبطة ببعضها كمايلى :



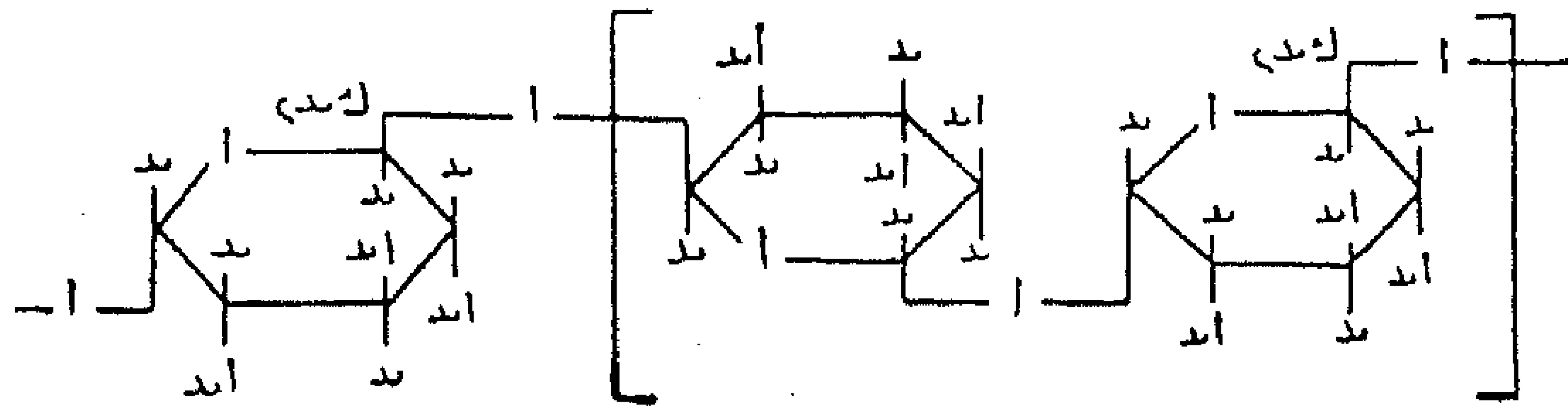
فالبكتيريا تهاجم السكروز لتكون فركتوزان ولكن لا يمكنها أن تكــون مواد صمغية أو لزجة من الجلوكوز أو من الفركتوز كل بمفرده ، ولكــن يمكن لها إحداث الصموغ إذا توفر لها مخلوط منهما أو عقب تحول السكر السكروز . وهذا يوضح أن الطاقة الناتجة عن تحلل السكروز مائيا قد تستعمل فى وحدات الفركتوفيورانوز معا .

وقد أمكن الحصول على مستخلصات انزيمية من خلايا البكتيريا *Bac. subtilis* يمكنها أن تساعد فى تكوين فركتوزان من سكر السكروز .

سكروز ⟵ فركتوزان + جلوكوز .

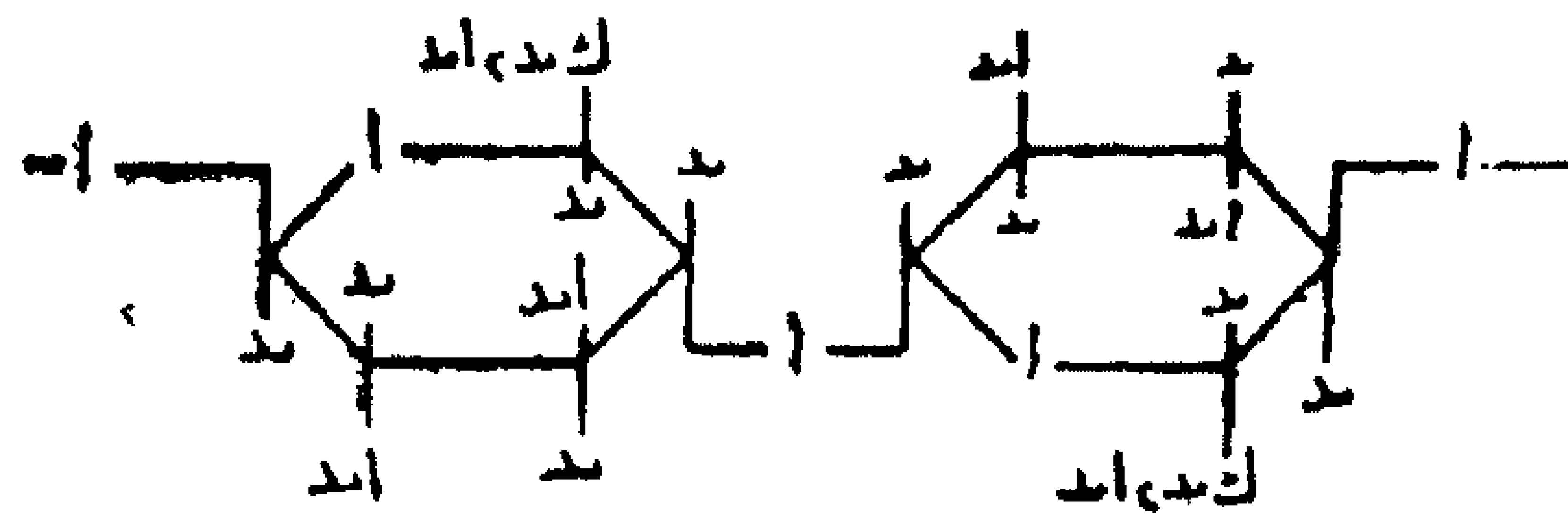
وفى حالات أخرى تتكون الصموغ والمواد اللزجة الخارجية هذه مــن

جلوكوزان فالبكتيريا *Leuconostoc dextranicus*، و *Leucoccus mesenteroides* و *Betacoccus arabionsus* ، يمكنها أن تكون الجلوكوزان عندما تنمو فى وجود السكروز . والجلوكوزان ، يتركب من وحدات متعددة من سكر الجلوكوز كما يلى :



السليولوز البكتيرى

سبق أن ذكرنا أن البكتيريا التابعة للجنس *Acetobacter* وبخاصة *A. xylinum* يمكنهاأن تكون غشاء سطحيا لزجا على سطح البيئات التى تحتوى على سكروز أو جليسرول . وأن هذا الغشاء يتكون من عديدات تسكر لها نفس التركيب الكيماوى الخاص بالسليولوز النباتى بمعنى أن سلاسلها تتكون من وحدات متعددة من الجلوكوز glucose كما يلى :



تخزين الكربوايدرات بالخلايا البكتيرية

من المعروف أن الطاقة تخزن بالأنسجة الحيوانية على صورة جليكوجين وفى الأنسجة النباتية على صورة نشا . ومن المعروف أيضا أن خلايا البكتيريا

يمكنها أن تخزن احتياطيا من المواد الكربوايدراتية (عديدات التسكر) إلا أن الدراسات التى تمت فيها يختص بطبيعة الكربوايدرات المخزنة لازالت قليلة نسبيا . فمثلا عندما يسمح لخلايا البكتريا *E.coli* أن تستهلك كمية زائدة من سكر الجلوكوز ، فإن عديدات تسكر يمكنها أن تتكون بداخل الخلايا ولكن هذه المواد تستهلك مباشرة بمجرد نفاد الجلوكوز من البيئة .

المراجـــع

Ajl, S. J. 1951. Terminal respiratory Patterns in micro-organisms. Bact. Rev. 12 : 211.

Barker, H.A. and M. Dourboff. 1946. «Bacterial metabolism » Ann. Rev. Biochem. 15 : 4745 .

Elsden, S. R. 1952. «Bacterial fermntations » in J. B. Sumner and K. Myrback (eds) The enzyme. vol. II. Academic Press N. Y.

Hassid, W. Z. and M. Doudoroff. 1950. Synthesis of disaccharides with bacterial enzymes Advances in Enzymol. 10 : 123.

Hehre, E. J. 1951. «Enzyme synthesis of polysaccharides : a biological type of polymerezation» Advances in Enzymol. 11 : 297

Lipmann, F. 1941. Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy. Advances in Enzymol. 1 : 99.

Werkman, C. H. 1939. Bacterial dissimilation of carbohydrates. Bact. Rev. 3 : 187.

Werkman. C. H. and F. Schlenk. 1951. «Anearobic dissimilation of carbohydrates» in C. H. Werkman and P. W. Wilson (eds) «Bacterial physiology» Academic Press, N. Y.

الفصل الرابع

التحولات الأيضية للمواد النيتروجية

Metabolism of Nitrogenous compounds

أن المحتويات البروتينية للخلايا الحية عموما تمثل المصدر الرئيسي لمادة الحياة بهذه الخلايا . فالانزيمات عبارة عن بروتينات يتم على سطوحها عديد من التفاعلات . وكل خلية بكتيرية تحتوى على عديد من هذه الانزيمات وتختلف الأنواع البكتيرية وكذلك السلالات التابعة للنوع البكتيرى الواحد فى نوع البروتينات التى تحتويها .

ويتركب الجزىء البروتينى من وحدات من الأحماض الأمينية مرتبطة ببعضها عن طريق روابط ببتيدية « peptide bonds » بمعنى أن المجموعة الكربوكسيلية من حمض أمينى معين ترتبط بالمجموعة الأمينية للحمض الأمينى المجاور مع انفصال جزىء من الماء . وبالرغم من معرفة أن جزىء البروتين يتكون من سلاسل طويلة عبارة عن أحماض امينية مرتبطة ببعضها بالطريقة السابق وصفها إلا أن تركيب البروتينات فى حد ذاته لازال غير معروف . فقد تترتب سلاسل الببتيدات بجملة طرق فمنها مايترتب بشكل طبقات متراصة laminated layers أو بشكل حلقات من السلاسل كل منها يتكون من خمسة أو ستة أو سبعة أحماض أمينية أو بشكل حلزونى أو دوائر كبيرة تحتوى كل منها على ١٥ — ٢٠ حمض أمينى ، وكل دائرة قد ترتبط مع الأخرى لتكون أشكالا مختلفة . وهناك مايبرر الاعتقاد بأن كل هذه الأشكال قد تتواجد معا فى تركيب بروتين واحد أو آخر .

ومن المعتقد أن عدد الأحماض الأمينية ودرجة ترتيبها فى السلاسل الببتيدية

وكذا الصورة المتواجدة عليها (configuration forms) تحدد طبيعة البروتين وطبيعة سطوح جزيئاته (القدرة التخصصية) علاوة على تحديدها ، لصفاته الكيمائية أو الفيزيائية الأخرى (درجة بنائه وسهولة تحلله إنزيميا وكذا قدرته التخصصية .... الخ) .

ويعرف الآن مايقرب من ثلاثين حمض أمينى تتواجد جميعها بالطبيعة ، وقد ساعدت طرق الدراسة الكروماتوجرافية فى اكتشاف بعضا منها وإضافة المزيد حيث أن عدد الأحماض الأمينية الطبيعية آخذا فى الازدياد .

ويبدو أن جزيئات البروتينات تحتوى على معظم هذه الأحماض الأمينية فقد تبين أن ٢٥ حمض أمينى تتواجد باستمرار فى جزيئات معظم البروتينات إلا أن هناك بعض البروتينات قد تفتقر إلى واحد أو أكثر من الخمس وعشرين حمض امينى المشهورة والمعروفة .

هدم البروتينات : Proteolysis

حيث أن عملية تخليق البروتينات تعتبر من التفاعلات الأساسية التى يتضمنها نمو الخلايا البكتيرية فإننا يجب أن نهتم بطبيعة الوحدات البنائيـــة التى يمكن للخلايا أن تبنى بها بروتيناتها وكذلك بنوع الانزيمات التى تساعد فى مثل هذه التفاعلات البنائية . ومن الطبيعى فإن نمو الخلايا الجديدة فى بيئة كان يشغلها من قبل نمو خلايا الآباء تقتضى عمليات تحليلية للبروتينات المعقدة المتخلفة عن النمو السابق وذلك لغرض الاستفادة من المواد الناتجة عن التحلل مثل الأحماض الأمينية أو الأمونيا أو حتى النيتروجين لبناء خلايا جديدة .

وتحلل البروتينات عن طريق النظم البيولوجية عبارة عن عملية تحلل مائى (hydrolysis) للبروتين إلى مكوناته من الأحماض الأمينية . وقـــد تم التعرف على المجاميع الانزيمية التى تساعد فى هذه التفاعلات فى الأنسجة الحيوانية ، وأمكن تقسيم الانزيمات المحللة للبروتينات proteolytic التى تتواجد فى القنوات

المضمية للحيوانات الثديية إلى : ببسين pepsin ، تريبسين trypsin والأخير يعرف أحيانا باسم اريبسين erypsin . وهذه الإنزيمات تعـرف بالبولى ببتيـداز « polypeptidases » . أو الببتيداز « peptidases » .هذا ولم يتعرف بعد على طبيعة الانزيمات البكتيرية المحللة للبروتينات والمناظرة لتلك الموجودة بالقنوات المضمية للحيوانات الثديية .

وحيث أن جزيئات البروتين تكون كبيرة بدرجة لاتسمح بمرورها خلال جدر الخلايا البكتيرية فإن الخلايا المحللة للبروتينات يجب أن تفرز انزيماتها المحللة للبروتين خارجيا لتقوم بالتحلل المائى . وقدرة الخلايا البكتيرية على افراز هذه الانزيمات تكون محدودة فى عدد قليل من الأنواع البكتيريـة مثل أنواع جنس *Clostridium* والتى منها *Cl. sporogenes* ، *Cl. histolyticum*

والتى لها القدرة على افراز انزيمات محللة للبروتينات على درجة عـالية من النشاط فى بيئة النمو . ويمكن الحصول على هذه الانزيمات من راشح مزارع هذه البكتريات وترسيبها باستعمال أحد المرسبات البروتينية .

وهناك بعض أجناس بكتيرية أخرى تتميز أنواعها بافراز الانزيمات الخاصة بتحليل البروتينات ولكن بدرجة أقل نشاطا مثل أنواع جنس *Proteus* و *Pseudomonas* ، و *Streptococcus* والأخير قـد يحتوى عـلى أفراد ضعيفة فى قدرتها التحللية للبروتينات. ويمكن التعرف على كفاءة البكتريات على تحليل البروتينات المعقدة من قدرتها على هضم الجيلاتين أو الكازيين .

وبالرغم من أن الكائنات المحللة للبروتينات قد تفشل فى النمو على بيئات تحتوى على بروتين معقد كمصدر وحيد للكربون إلا أن إضافة القليل مـن مصدر بروتينى سهل التناول يمكن الخلايا من تخليق الانزيمات المحللـة للبروتينات واللازمة لمهاجمة البروتين المعقـد .

وهناك ظاهرة يختلف العلماء فى تفسيرها وهى التى تعرف بفعل الكربوايدرات الموفر للبروتينات protelin sparing action of carbohydrates. وتتلخص هذه الظاهرة فى أن أضافة سكر الدكستروز أو سكر آخر سهل التخمر إلى بيئة نمو بكتريا محللة للبروتينات يقلل كثيرا من نشاطها التحليلى عنه فى حالة غياب الدكستروز ، وقد لاحظ Kendall (١٩٢٣) هذه الظاهرة لأول مرة بدراسته للبكتيريا *Proteus vulgaris* النامية فى بيئة الجلاتين والبيون .

وتختلف الفطريات عن البكتيريا فى هذا الصدد فقد وجد أن اضافة الكربوايدرات إلى البيئة يزيد من قدرة الفطريات على تحليل البروتينات فقد وجد أن الفطر *Gleocladium roseum* . وهو من الفطريات الناقصة يزداد قدرة على تحليل البروتينات بزيادة تركيز الجلوكوز بالبيئة إلى حد أقصى ٨٪ ، ويعلل ذلك بأن وجود الجلوكوز تزيد من درجة النمو وبالتالى تزيد كمية الانزيمات المفرزة .

والانزيمات البكتيرية المحللة للبروتينات تهاجم البروتين عن طريق هدم الروابط الببتيدية محوله إياه إلى polypeptides ثم تعود مرة أخرى لتهاجم هذه المركبات المعقدة لتكون مركبات أقل تعقيدا وهى dipeptides وهذه المركبات تعرف فى مجموعها باسم الببتون ، وغالبية البكتيريات غير ذاتية التغذية لها القدرة على استعمال الببتون كمصدر للنيتروجين وأحيانا كمصدر للطاقة . من هنا يمكننا أن نتفهم لماذا تحتوى البيئات الروتينية والخاصة بزرع هذه المجموعة من البكتيريات على مركب الببتون .

ومن المحتمل جدا أن تختلف الأجناس والأنواع البكتيرية فى نوع الأنزيمات

المحللة للبروتينات التي تفرزها ولكن لازالت الدراسات الخاصة بهذا الموضوع قليلة وبدرجة لاتسمح باحتمال أى تعميم .

والناتج النهائي من هضم البروتينات عن طريق الانزيمات البكتيرية (proteases) هو الأحماض الأمينية .

وحيث أن البكتيريات ذات القدرة على افراز انزيمات محللة للبروتينات خارجيا فهى قد تحتوى على انزيمات شبيهة داخل الخلايا وهذه الانزيمات تكون مسئولة عن عمليات التحلل الذاتى autolysis للخلايا بعد موتهـا ويمكننا أيضا أن نقرر أن وجود مثل هذه الانزيمات داخليا أثناء نمو الخلية تساعد على تحلل البروتينات الخلوية المستغنى عنها والتي لم تعد صالحة فى حين أنها لاتهاجم اطلاقا البروتينات الخلوية وهى فى صورتها الفعالة أو الحيـة .

وحيث أن تحلل البروتينات يتم عن طريق تحللها مائيا إلى بولى ببتيدات ثم داى ببتيدات ثم إلى أحماض أمينية وأن الخلايا تحتوى داخليا على انزيمات ذات القـدرة على احداث هـذا التحلل فإنه من الممكن عندما تعمل هذه الانزيمات فى الاتجاه المضاد أن تساعد فى عمليات تخليق البروتينات الخلويـة .

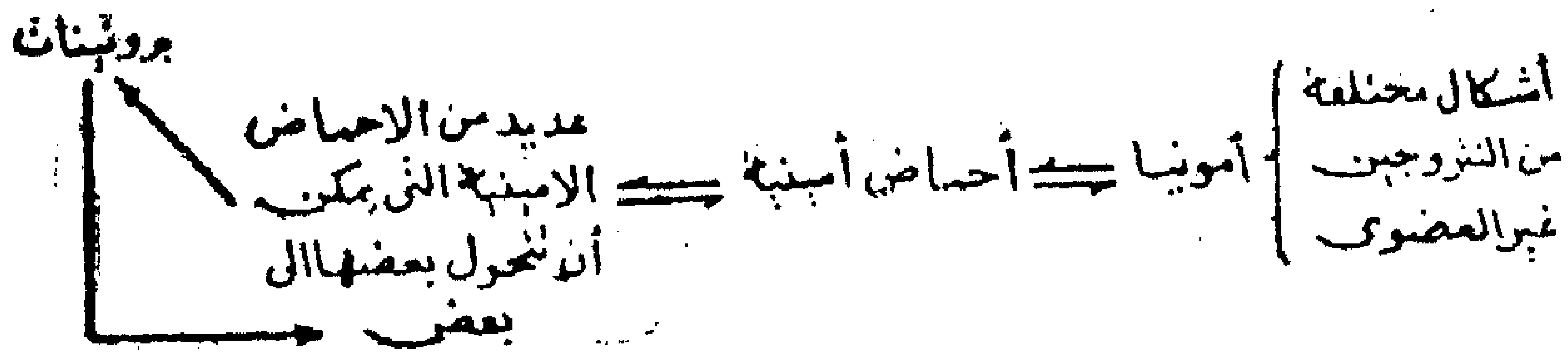
وهناك من البراهين مايؤيد هذا الاعتقاد : (١) أن سلسلة البولى ببتيد التي تتواجد فى جزىء البروتين لاتتكون عن طريق تكدس مجموعة مـن الأحماض الأمينية فى وقت واحد بل عن طريق إضافة الأحماض الأمينية إلى السلسلة الببتيدية واحدا عقب الآخر حتى يتم تكوين جزىء البروتين.(٢) أن معظم ، أن لم يكن كل ، الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين جزىء بروتينى تتجمع أولا بداخل الخلية .

وقد ثبت أن كمية البروتين التي تحتويها خلية بكتيرية تعتمد إلى حـد ماعلى الظروف المزرعية بمعنى أن الخلايا النامية فى بيئة تحتوى على مصدر فقير

فى النيتروجين تحتوى على نسبة قليلة من البروتين وبالتالى يقل نشاطها الانزيمى إلا أن كمية البروتين بالخلية لاتختلف كثيرا وبدرجة كبيرة إذ أن الخليــة لايمكنها الانقسام إلا إذا احتوت على كمية من البروتين تكفى خليتين . وفى ظروف التجويع النيتروجينى للخلايا فإنه يبدو أن نوع معين من البروتين قــد يتحول إلى نوع آخر لكى يستمر النمو .

ومن أسهل الطرق الخاصة لتقدير بروتين معين بالخلايا البكتيرية هو أن يقاس نشاط انزيم معين بها . فإذا فرضنا أن خلية بكتيرية يمكنها أن تنمو وتكون ذات نشاط انزيمى معين ثم تنقل هذه الخلايا إلى بيئة خالية من مصدر للنيتروجين فإننا نلاحظ تلاشى نشاط هذا الانزيم وفى نفس الوقت يمكن ملاحظة زيادة فى نشاط انزيم آخر لم يكن موجودا من قبل بهذه الخلايا .

وإذا وفرنا ببيئة نمو كائن بكتيرى حمضا أمينيا يحتوى على نظائر مشعة (نيتروجين مشع) ، فإن هذا الحمض الأمينى المعلم labeled يمكن متابعته فى البروتينات الخلوية المختلفة . وقد تشاهد النظائر المشعة فى بعض الأحماض الأمينية الأخرى وبعض المركبات النيتروجينية الأخرى أيضا ، ولكن غالبيته تلاحظ فى البروتين المحتوى على الحمض الأمينى المضاف إلى البيئة . وهــذا يوضح أن الأحماض الأمينية الموجودة بالبيئة ، تدخل فى تكوين البروتينات الخلوية ، وأنه يمكن تحول الأحماض الأمينية بعضها إلى بعض . ولايضاح ذلك نسوق البيان التخطيطى التالى (شكل ١١٣) .



شكل ١١٣ : بيان تخطيطى يمثل الخطوات المختلفة فى التحولات الايضية للبروتينات والمواد النيتروجينية .

ويبدو أنه من اللازم تتابع التفاعلات المختلفة حسب ترتيبها الطبيعى والتى تؤدى إلى تحول المركبات النيتروجينية غير العضوية إلى أحماض أمينية ثم إلى بروتينات . ويقودنا هذا إلى مناقشة دورة النيتروجين فى الطبيعة لأهميتها فى توفير المصادر غير العضوية من النيتروجين .

دورة النيتروجين :

من المعروف أن بعض البكتيريات يمكنها أن تثبت النيتروجين الجوى (الغازى) لتكون منه مركبات نيتروجينية عضوية ، وهذه المركبات العضوية يمكنها أن تتحلل فيما بعد عن طريق فعل بعض الكائنات الأخرى مع انطلاق الامونيا والأمونيا بدورها تتأكسد إلى نترات بفعل بكتيريا التأزت ذاتية التغذية كما أن بعض البكتيريات التابعة لجنس *Chromobacterium* يمكنها أن تهاجم النترات مؤدية إلى انطلاق غاز النيتروجين من جديد . من ذلك نجد أن غاز النيتروجين الناتج يمكنه أن يستكمل الدورة . ويبين (شكل ١١٤) الخطوات المختلفة فى دورة النيتروجين والتى سنناقشها بشئ من التفصيل .

شكل ١١٤ : دورة الآزوت

وحيث أن الأمونيا هى الصورة النيتروجنية غير العضوية التى يمكن دخولها فى تكوين النيتروجين العضوى بالخلايا فهى أيضا تدخل تفاعلات أخرى تتضمن مركبات غير عضوية تكون فى حالة توازن مع المركبات العضوية ، يلزم إذن تفصيل هذه التفاعلات لمعرفة دورها فى التحولات الغذائية وهى كما يلى :

(١) تثبيت النيتروجين : Nitrogen fixation

هي عملية تحويل للنيتروجين الغازى إلى صور مثبتة fixed forms أو بمعنى آخر إلى صور يسهل على الكائنات الاستفادة منها . ومن المعروف أن هناك كائنات بكتيرية يمكنها استغلال النيتروجين الغازى فى أغراض نموها . وعرفت هذه الحقيقة منذ زمن بعيد كطريقة من طرق زيادة خصوبة التربة الزراعية . إن غالبية النباتات تعتبر ذاتية التغذية حيث تستهلك محتويات التربة من النيتروجين غير العضوى . ونتيجة لذلك فإن زراعة المحاصيل النجيلية مثلا بالأرض الزراعية تستهلك معظم محتوياتها من النيتروجين وتكرار زراعة هذه الأرض سنة تلو الأخرى يسفر عن نقص ملحوظ فى المحصول الناتج حتى تصبح زراعة مثل هذه الأرض بنفس المحصول غير مجدية من الناحية الاقتصادية . ويمكن استرداد خصوبة التربة باتباع أحد طريقين : ١ — ترك الأرض بور بدون زراعة لمدة عام أو تبادل زراعة القمح مع محصول آخر مثل البرسيم أوغيره من المحاصيل البقولية . فإن كلا من هذه الطرق تعيد مستوى تركيز النيتروجين بالتربة إلى معدله الطبيعى . وكلا الطريقتين يرجع أثرهما إلى فعل البكتيريا فى تثبيت الآزوت الجوى ثم تحويله إلى صورة صالحة لتغذية النبات . ففى حالة ترك الأرض بور فإن البكتيريات المسئولة هى تلك الهوائية اجبارا والتى تعرف باسم *Azotobacter*

وتعتبر البكتيريا *Clostridium pasteurianum* أول البكتيريات التى عزلت من التربة ولها القدرة على تثبيت الآزوت الجوى وهى بكتيريا غير الهوائية اجبارا أقل كفاءة فى تثبيتها للآزوت من البكتيريا *Azotobacter* وهناك بعض الكائنات الدقيقة الأخرى مثل بعض الطحالب الخضراء المزرقة وكل البكتيريات الممثلة للضوء (بيكتيريا الكبريت القرمزية يمكنها أيضا تثبيت الآزوت الجوى.

والبكتيريا *Azotobacter* ذات مقدرة على النمو السريع عند وجود

النيتروجين الغازى كمصدر وحيد للآزوت وكذلك فى وجود الكربوايدرات كمصدر للطاقة . وهناك تلازم طردى بين كمية النيتروجين المثبت وكمية الكربوايدرات المستهلكة . وفى التربة تعتبر كمية الكربوايدرات الممكن استعمالها عاملا محددا لتثبيت الآزوت ، وهذا يفسر لماذا يهتم المزارعون باضافة مخلفات المزروعة (الغنية بالمواد الكربوايدراتية) إلى التربة . وبالرغم من الدراسات التى تمت على البكتيريا *Azotobacter* إلا أن كيمياء تثبيت الآزوت لازال من الأمور المختلف عليها . وقد اقترح أن النيتروجين الجوى يختزل أولا بفعل البكتيريا إلى أمونيا (ن يد٣)أو هيدروكسالامين (ن يد٢ ايد) إلا أن هذه الاقتراحات كان ينقصها الدليل الكافى . والدراسات الحديثة على البكتيريا *Azotobacter* التى استعمل فيها نيتروجين مشع (isotopic - N_2 15) أظهرت أن النيتروجين المشع يمكن متابعته فى الأحماض الأمينية بداخل خلايا البكتيريا بعد دقائق من تعريض الخلايا إليه . وعند عزل الأحماض الأمينية المختلفة من الخلية وتقدير كمية النيتروجين المشع لكل منها فإنه يمكن أن نتوقع أن تلك المحتوية على نسبة أكبر من النيتروجين المشع تكون هى التى تكونت أولا نتيجة لعملية التثبيت . ومثل هذه الدراسات قد اسفرت عن أن حمض الجلوتاميك هو أكثر الأحماض الأمينية احتواء على النيتروجين المشع بمعنى أنه الحمض الأمينى الذى يتكون أولا عقب عملية التثبيت حسب الافتراض السابق ، وأن هذا الحمض لابد وأنه يعمل على تكوين الأحماض الأمينية الأخرى عن طريق عملية Transamination .

وقد ثبت أيضا أن البكتيريا *Azotobacter* يمكنها أن تنمو فى وجود الأمونيا . ولكن وجود مثل هذا المصدر من الآزوت يمنع الخلايا من القيام بعملية التثبيت . وإذا علمت الأمونيا المضافة بنيتروجين مشع فإنه يمكن متابعة النيتروجين المعلم labled nitrogen مباشرة فى البروتين الخلوى بعد عدة دقائق من النمو . وقد وجد أن درجة توزيع النيتروجين المشع فى الأحماض الأمينية كان مطابقاً لما وجد عندما ثبتت الخلايا غاز نيتروجين مشع

أيضا . من ذلك أمكن التعرف على أن الأمونيا هي الناتج الأول لعملية التثبيت.

وقد لوحظ أيضا أهمية وجود آثار من الحديد والكالسيوم والموليبدنم لنمو البكتيريا *Azotobacter* عندما يكون الآزوت الجوى هو المصدر الوحيد للنيتروجين وأن ليس لها أهمية إذا مانميت فى وجود الأمونيا أو بمعنى آخر أن وجود آثار من هذه المعادن يعتبر هاما فقط لعملية تثبيت الآزوت الجوى .

ومنذ زمن طويل استطاع المزارعون أن يستغنوا عن عملية ترك الأرض بدون زراعة لاسترجاع خصوبتها بزراعة أحد المحاصيل البقولية بها ، وقد لوحظ أيضا أن جذور هذه النباتات تحتوى على انتفاخات أو عقد عديدة nodules وقد تمكن كل من Hellriegel & Wilfarth (١٨٨٨) من التعرف على وظيفة هذه العقد الجذرية عندما قاما بدراسة طريقة تكوينها على جذور البسلة حيث وجد أن هناك علاقة بين كمية النيتروجين المثبتة وتكون هذه العقد على الجذور ، كما بينا أيضا أن هذه العقد لاتتكون اطلاقا فى التربة المعقمة. وقد أدى ذلك إلى التعرف على أن تكوين العقد على جذور البقوليات يرجع إلى فعل بعض البكتيريات التى تعرف باسم *Rhizobia* وأن هذه البكتيريات تتواجد بالتربة وذات قدرة على اختراق جذور البقوليات وتدخل البكتيريا الجذر عن طريق الشعيرات الجذرية ثم تهاجم خلايا الجذر والتى تتنبه لتكوين جدر حول خلايا البكتيريا المهاجمة والتى تتحد ببعضها مكونة لما يعرف بخيط العدوى infection thread ثم تبدأ الخلايا البكتيرية فى إفراز مادة معينة لها القدرة على تنشيط بعض خلايا الجذر على الانقسام ونتيجة لازدياد النمو فى مناطق الإصابة تتكون العقد الجذرية ، ونمو العقدة فيما بعد يعتمد كثيرا على النبات . ويحدث ذلك فى أماكن كثيرة ومتفرقة على جذور النبات البقولى وعندما تنفجر العقدة أو تتحلل فإن محتوياتها من الخلايا البكتيرية تنطلق إلى التربة لتعيد الاصابة. ووجود البكتيريا *Rhizobia* متصلة بالنبات بالطريقة السابقة الذكر ، يمكنها من القيام بتثبيت الآزوت الجوى

ويبدو أن عملية التثبيت هذه عملية تبادل منفعة « symbiosis » حيث أن كلا من النبات أو البكتيريا عندما تنمو منفردة لايكون لها القدرة على تثبيت الآزوت الجوى . والنبات لايمكنه أن ينمو بحالته الطبيعية فى تربة معقمة إذا ما وفرنا له مصدرا من الآزوت الجوى . إلا أنه ينمو جيدا فى تربة معقمة إذاما وفرنا له مصدرا من الآزوت الصالح للامتصاص حيث أنه لايقدر على تثبيت الآزوت الجوى . وكذلك نجد أن البكتيريا *Rhizeobium* يمكنها أن تعيش معيشة حرة (ليست مرتبطة بالنبات) فى بيئة تحتوى على آزوت مثبت «أمونيا» ولكنها فى هذه الحالة أيضا تكون غير قادرة على تثبيت الآزوت .

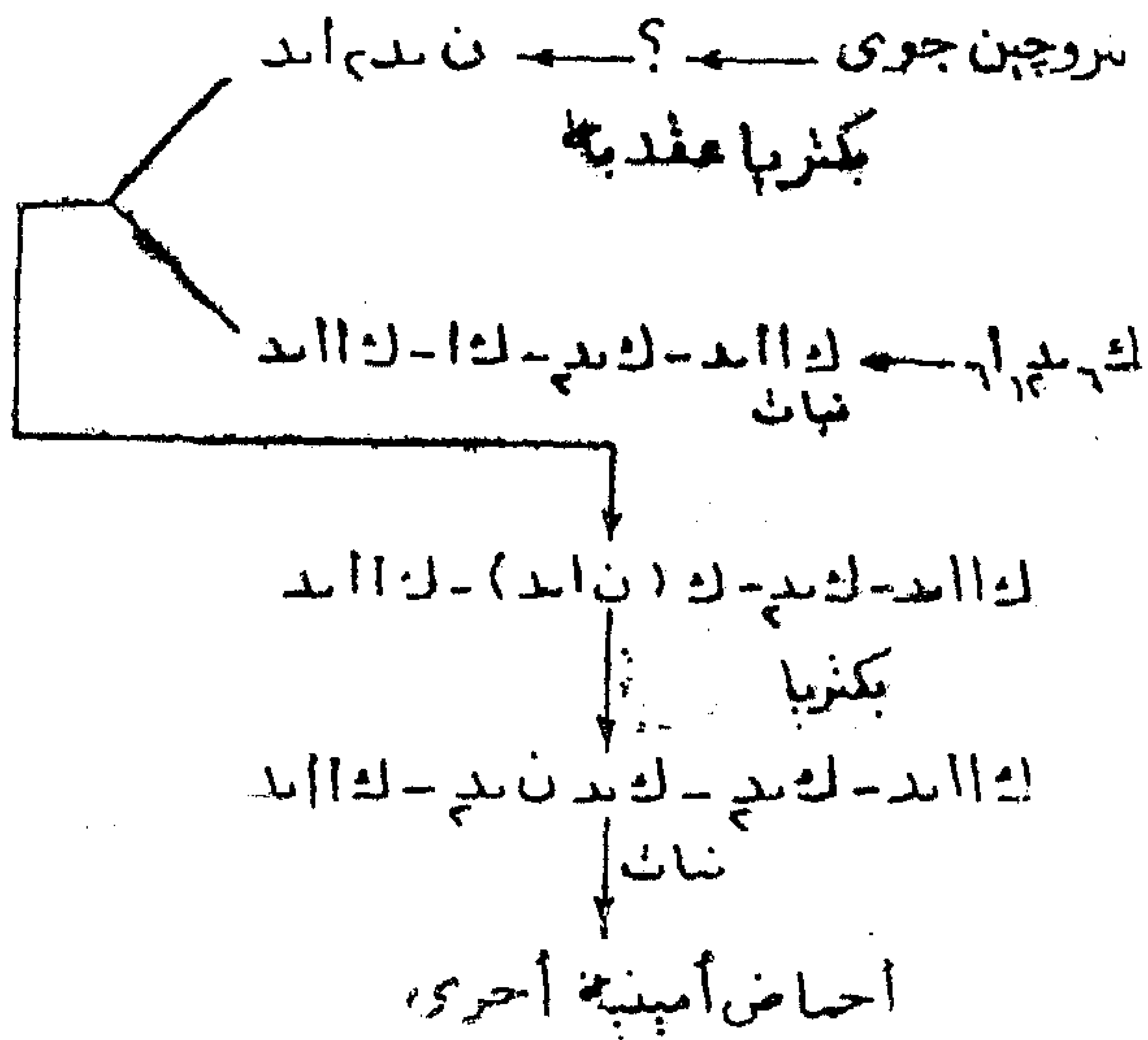
وهناك نوع من التخصص بين البكتيريا العقدية وبين النبات البقولى الذى يمكنها أن تعيش معه معيشة تبادل منفعة. فمثلا نجدالبكتيريا *Rhizobium trifolium* يمكنها أن تكون عقدا جذرية فقط على جذور البرسيم الحولى وتقوم بعملية التثبيت فى حين أن البكتيريا *Rh. meliloti* تكون عقدا جذرية على جذور البرسيم الحجازى Alfalfa وبعض النباتات البقولية الأخرى . والبكتيريا *Rh. leguminosarum* تكون عقدا جذريا فقط على جذور البسلة وبسلة الزهور والعدس . وعلاوة على ذلك فإن هناك سلالات من النوع الواحد مثل *Rh. trifolium* تختلف فى كفاءتها فى تثبيت الآزوت بالرغم من تكوينها للعقد الجذرية .

من ذلك نرى أنه من الناحية الاقتصادية يلزم استعمال السلالات ذات الكفاءة المرتفعة فى عملية التثبيت فى تلقيح التربة فى تلقيح التربة أو البذور قبل الزراعة للحصول على أكبر ربح . وتعرف مجموعة النباتات التى تصاب بسلالة معينة من هذه البكتيريا باسم (المجموعة المشتركة التلقيح(cros-inosulation group وعقب تكون العقد على الجذور فإن البكتيريا قد تثبت أولا تثبت الآزوت حسب طبيعة السلالة المستعملة . وفى الحالة الأخيرة يمكن اعتبار البكتيريا مرضا نباتيا . وقدرة البكتيريا على تثبيت الآزوت

تتوقف على نوع النبات وعلى الظروف البيئية للنمو ، وكذلك على كمية النيتروجين التي يكون النبات قد امتصها . وعندما تتوازن كل هذه الظروف يمكن للعملية أن تستمر بطريقة تبادل المنفعة ، حيث تمد البكتيريا النبات باحتياجاته من النيتروجين ويوفر النبات الغذاء والمكان اللازم للبكتيريا .

وقد تمت دراسة كيمياء تثبيت الآزوت عن طريق تبادل المنفعة بشيء من التفصيل حيث نشرت مجموعة كبيرة من الابحاث عن هذا الموضوع كان أهمها مانشره العالم Virtanen (١٩٤٧) والذى اقترح فيها مايلى :

يثبت الآزوت بواسطة البكتيريا العقدية ليكون مادة الهيدروكسال أمين (ن يد٢ ايد) عقب خطوات وسطية غير متعرف عليها . وفى نفس الوقت تتحلل المواد الكربوايدراتية بداخل خــلايا النبات لتكون نتيجة لذلك حمض أوكسالاستيك (oxalacetic acid) . يتحد الهيدروكسال أمين مع حمض الأوكسالاستيك مباشرة ليتكون منها مركب معقد هـــو حمض الاوكزيموسكسنيك (oximo - succinic acid) والذى يختزل فيما بعد بفعل

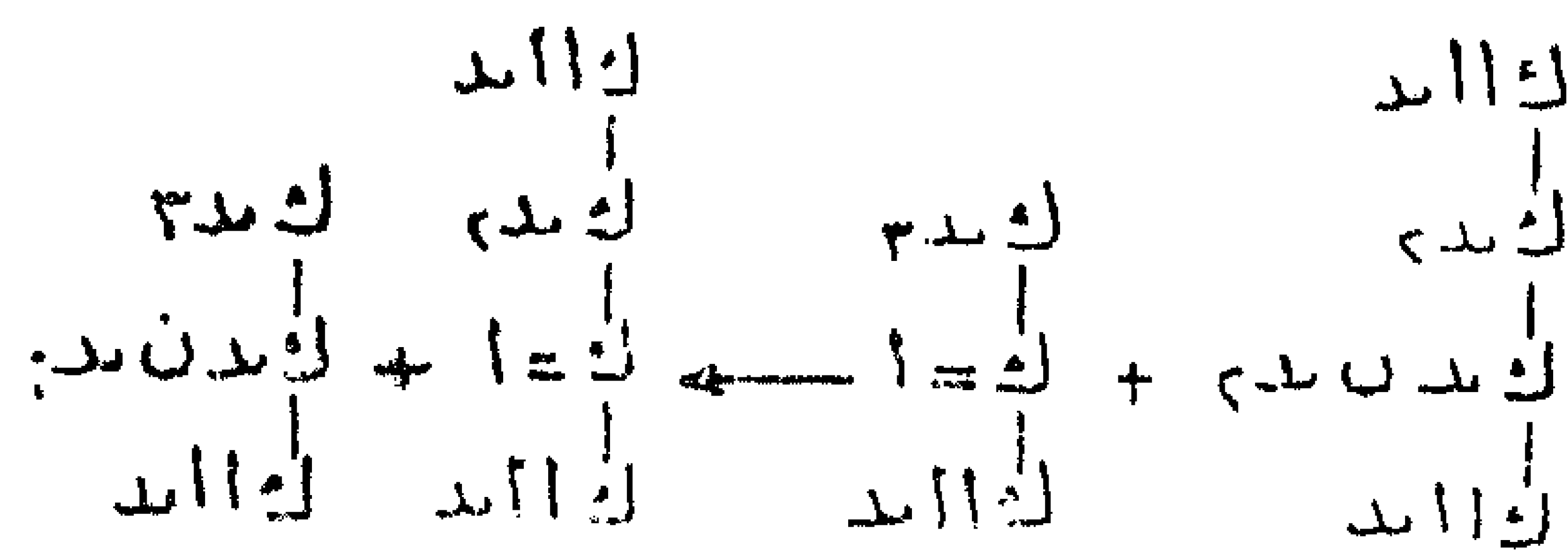


شكل ١١٥ : الخطوات المختلفة فى عملية تثبيت الآزوت بواسطة البكتيريا العقدية .

البكتيريا العقدية إلى حمض الاسبارتيك (aspartic acid) . وحمض الاسبارتيك الناتج يعمل كمصدر للاحماض الأمينية الأخرى بداخل أنسجة النبات عن طريق عملية تحولية تعرف باسم ttıansamination . و (شكل ١١٥ يبين الخطوات المختلفة من هذه التفاعلات .

والبراهين التي تؤيد هذا النظام كما ذكرها Virtanen هي كما يلي :

١ — امكان عزل حمض الاسبارتيك وبعض نواتج تحلله مثل مركب البيتا الانين B - alanine من التربة المحيطة بجذور النباتات البقولية ضمن الافرازات الجذرية وأن هذه الافرازات تنتج فقط من العقد الجذرية ٢ — امكان عزل المركب أو كزيمو سكسينك من التربة المحيطة بجذور النبات البقولى . ٣ — امكان التعرف على حمض الاكسالاستيك فى عصارات النباتات البقولية ٤ — امكان تنمية البكتيريا العقدية فى البيئات الخالية من مصدر للآزوت بشرط اضافة حمض الاكسالاستيك اليها حيث يمكن للنمو أن يحدث نتيجة لتثبيت الخلايا للنيتروجين الجوى . ٥ — امكان احداث تحول امينى transamination بين كل من حمض الاسبارتيك وحمض البيروفيك فى وجود مستخلصات نباتات البسلة ، والذى ينتج عنه حمض الأكسالاستيك وحمض الانين طبقاً للمعادلة التالية :



وقد قام Wilson وآخرون (١٩٥٢) بدراسة تثبيت الآزوت بالبكتيريات العقدية ولكنهم لم يستطيعوا الحصول على ناتج مشابهة لتلك التى اشار إليها Vertanen الا أنهم وجدوا أن عملية التثبيت يمكنها أن تتوقف فى وجود

الايدروجين . كما وجدوا أن العقد الجذرية تحتوى على صبغة هيماتينية haematin-pigment تشبه كثيرا هيمو جلوبين الدم ، ولا يعرف إلى الآن الدور الذى تقوم به هذه المادة فى عملية تثبيت الآزوت .

(ب) التحولات التى تتم بين النيتروجين البكتيرى والأمونيا

ان تحول البروتين البكتيرى إلى امونيا أو تحول الامونيا إلى بروتينات بكتيرية سوف يناقش فيما بعد . كما أن تحلل الأحماض الأمينية عن طريق عملية ازالة مجاميع الأمين deamination أو جزيئات ك ا٢ decarboxylation يتم تبعا لدرجة الـ pH السائدة فى البيئة ، فاذا حدثت عملية decarboxylation ينتج عن ذلك أمينات تزيد من حموضة البيئة ، وإذا وصلت قيمة pH البيئة إلى درجة التعادل أو القلوية فان الأميدات الناتجة نفسها يمكنها أن تهاجم عن طريق بعض البكتيريات مثل Pseudomonades مع انطلاق غاز الأمونيا .

(حـ) التأزت Nitrification

ان عملية تأكسد الأمونيا إلى نترات بالتربة يعرف باسم التأزت nitification وقد كان Scholoesing & Muntz (١٨٧٧) أول من بينا الأهمية البيولوجية لهذه العملية فقد قاما بتمرير محلول محتوى على امونيا خلال انبوبة طويلة محتوية على مخلوط من الرمل والطباشير ولاحظا اختفاء الأمونيا من المحلول الراشح واحتوائه على النترات وقد أظهر أيضا أن معاملة محتويات الانبوبة بالحرارة أو المواد الكيماوية السامة يوقف هذا التحول بمعنى أن معاملة محتويات الأمونيا تمر خلال الرمل بدون تغير . وبعد مرور مايقرب من أربعة عشر عاما على هذه التجربة تمكن Winogradsky (٩٠ — ١٨٩١) من عزل نوعين من البكتيريا مسئولة عن التأزت وهما *Nitrosomonas* ، *Nitrobacter* وهما من البكتيريات ذاتية التغذية اجبارا والتى لاتقدر على النمو أو بمعنى آخر يمتنع نموها فى وجود المواد العضوية . وحيث أنه كان من المعتاد حينئذ عزل الكائنات الحية عن طريق تنميتها على سطوح البيئات الصلبة المحتوية على جيلاتين

فيمكننا اذن أن نفهم سبب التخلف فى عزل هذه البكتيريات . إلى أن تمكن Winogradrsky من تحضير بيئة صلبة تتكون من أملاح معدنية مضافا اليها مادة السليكا لتصليبها وتعرف هذه البيئة الآن باسم بيئة جيل السليكا Silica gel,

وقد أمكن فيما بعد معرفة دور كل من الجنسين البكتيريين فى عملية التأزت فقد عرف أن *Nitrosomonas* تقوم بأكسدة الأمونيا إلى نيترايت *Nitrobacter* وتقوم بأكسدة النيتريت المتكون إلى نترات . بمعنى أن الثانية تكمل أكسدة المواد الناتجة من فعل الأولى .

وقد وجد أن العمليتين ليست متبادلة بل هى متعاقبة . فيمكن تنميـــة البكتيريا *Nitrosomonas* لفترة من الوقت على بيئة تركيبية محتوية على أمونيا كمصدر للنيتروجين والطاقة .

٢ ن يد٣ + ٣ ا٢ ← ٢ يد ن ا٢ + ٢ يد٢ ا + ٧٩ سعرا

ولكن لايمكن لهذه البكتيريا أن تنمو فى بيئة محتوية على نيتريت فى غياب الامونيا .

وبالمثل لايمكن للبكتيريا *Nitrosomonas* أن تنمو فى بيئة خالية تماما من النيتريت حيث أنها لابد وأن تحصل على الطاقة اللازمة لنموها من اكسدة النيتريت إلى نترات .

يد ن ا٢ + ا ← يد ن ا٣ + ٢١,٦ سعرا

وعموما يبدو أن عملية التأزت عملية موقوفة على هاتين البكتيريتين وأنها تتم فقط عندما تكون الظروف موافقة تماما لنمو هذه البكتيريات ذاتية التغذية اجبارا .

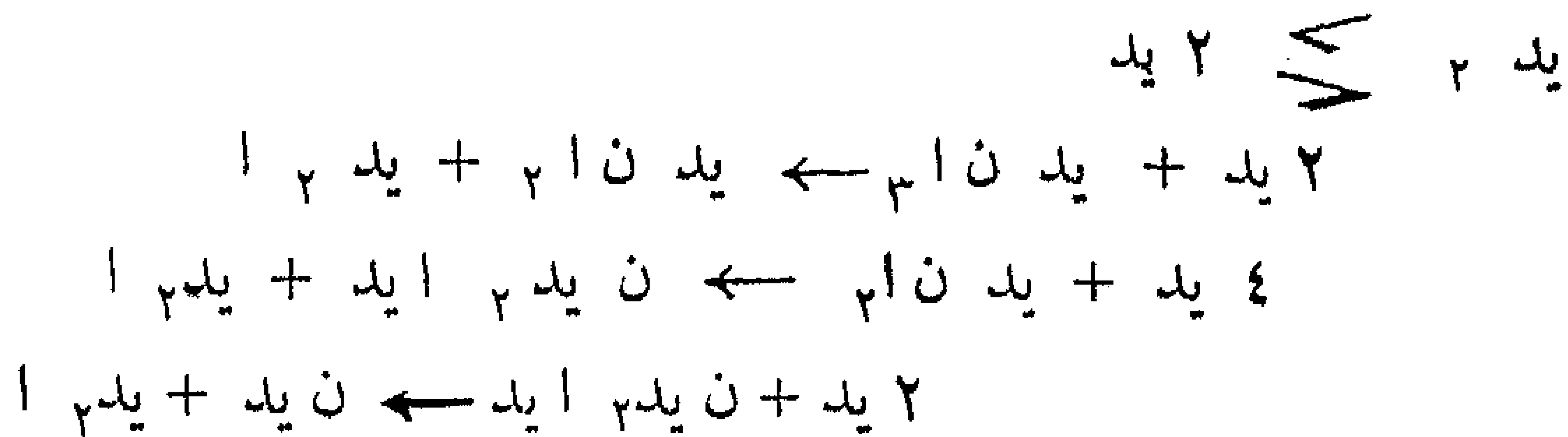
(د) اختزال الآزوتات إلى أمونيا : Nitrate reduction to ammonia

تحدث هذه العملية نتيجة لفعل عدد كبير من البكتيريات منها البكتيريا *E. coli* والبكتيريا *Cl. welchii* . فعند وجود مـادة معطية للايدروجين

hydrogen donator فان البكتيريا *E. coli* يمكنها اختزال النترات إلى نيتريت نظرا لاحتوائها على انزيم النيتراتاز « nitratose ». والهيدروجين اللازم لهذه العملية يمكنه أن يوفر عن طريق أحد الانزيمات المزيلة للايدروجين مثل formic dehydrogenase حيث يمكن لهذه البكتيريا أن تؤكسد فى نفس الوقت حمض الفورميك بطريق غير هوائى فى وجود النترات طبقا للمعادلة التالية :



ومن المعروف أن كل من البكتيريا *Cl. welchii* والبكتيريا *E. coli* تمتلك انزيمات مزيلة للايدروجين ، وعند توفر الايدروجين المزال ، نجـد أن اختزال النترات يتعدى تكوين النيتريت حيث يتكون امونيا نتيجة إلى اختزال النيتريت ، مع احتمال تكون مركب الهيدروكسال امين كمادة وسطية للاختزال طبقا للمعادلات التالية :



ويمكن تلخيص الخطوات السابقة فى التفاعل الكلى الآتى :



هذا والتفاعلات التى تتضمن تحول الامونيا إلى نترات يمكن اعتبارهـا تفاعلات عكسية للخطوات السابق الاشارة اليها إلا أن التفاعل فى اتجاه تكوين النترات (شكل ١١٤ حـ) يمكن أن يتم فقط عن طريق كائنات ذاتية التغذية اجبارا ، فى حين أن التفاعلات فى الاتجاه المضاد (شكل ١١٤ د) تتم بواسطة عدة كائنات غير ذاتية التغذية قد تكون غير هوائية اجبارا أو اختيارا .

(ﻫ) عملية عكس التأزت : Denitrification

عندما تنمى بعض أنواع من الجنس *Serratia* أو *Chromobacterium* أو تلك التابعة للعائلة *Pseudomonadaceae* على بيئة سائلة تحتوى على النترات أو النيتريت كمصدر للنيتروجين، يلاحظ اختفاء مثل هذه المصادر النيتروجينية من البيئة مع ظهور بعض الفقاعات الغازية والتى هى عبارة عن فقاعات غاز النيتروجين . وكيمياء هذه العملية التى تعرف باسم عكس التأزت، لم تدرس بعد بالتفصيل إلا أنه من المعروف أن تفاعلاتها غير عكسية .

من ذلك نرى أن فعل مثل هذه البكتيريات تمثل آخر خطوة فى دورة النيتروجين حيث أنها توفر غاز النيتروجين الذى يبدأ به والذى يستعمل كمصدر للنيتروجين للبكتيريا، *Azotobacter* أو *Rhizobium* وغيرها من الكائنات الدقيقة المثبة للأيدروجين .

تحول الأمونيا إلى مجاميع أمينية

سبق أن أشرنا إلى تحول الأمونيا إلى بروتين بكتيرى عند مناقشة دورة الآزوت (شكل ١١٤ ب) ويهمنا هنا أن نناقش هذه العملية بشىء من التفصيل .

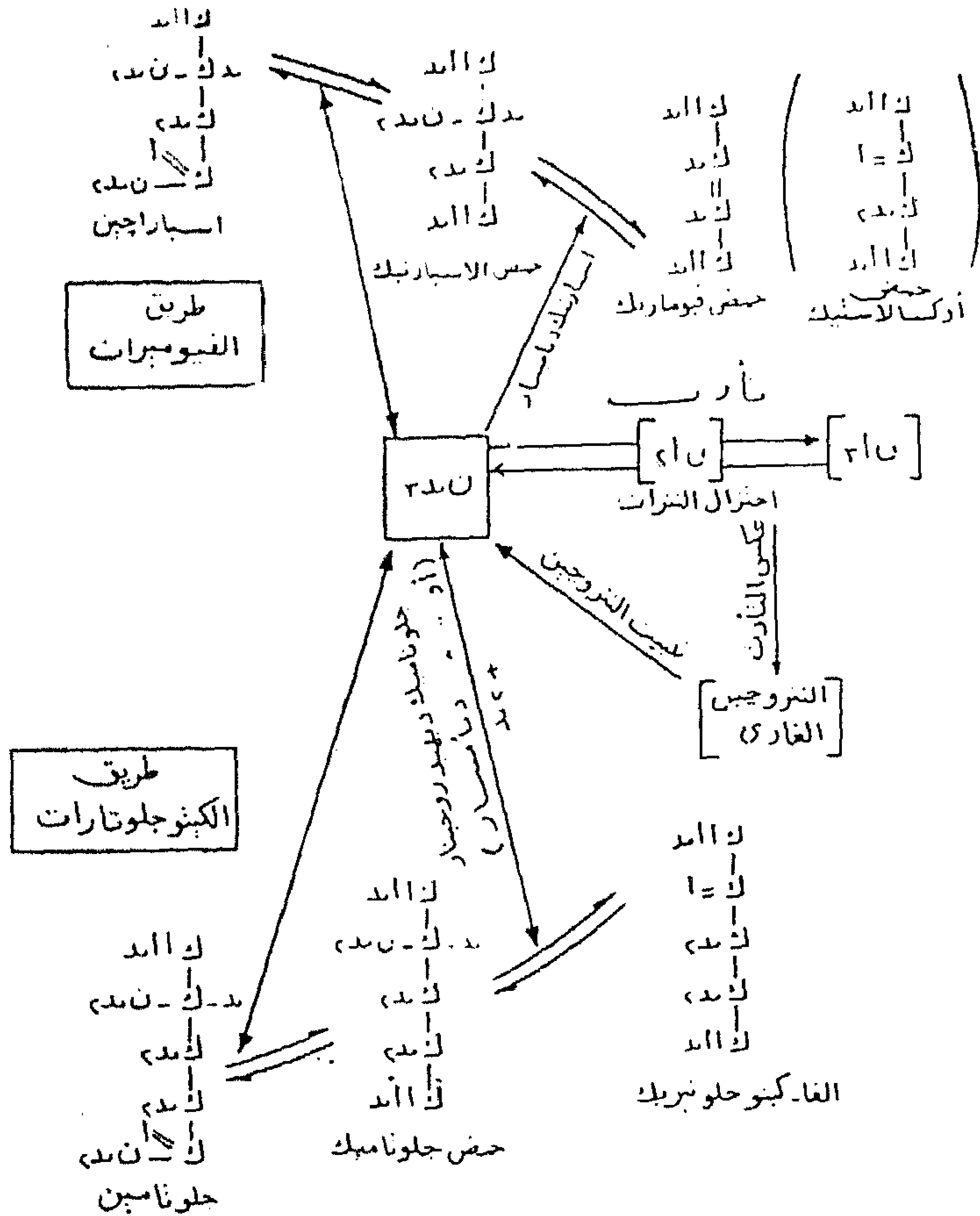
فمن المعروف أن صورة النيتروجين الممكن للخلايا استغلالها هى الصورة المختزلة من الأمونيا والتى تتحول فيها إلى مجاميع أمينية (ـ ن يد٢) أو أميدية (ـ ان يد٢) كما هو مبين (بشكل ١١٦) .

وكما سنبين فيما بعد أن هناك مجموعة من التفاعلات Deamination reactions يمكن للأمونيا أن تنطلق عن طريقها من المجاميع الأمينية ، إلا أن اثنين فقط من هذه التفاعلات تكون عكسية reversible وهذين التفاعلين العكسيين يساعد فيهما كلا من الانزيمين aspartic deaminase و glutamic deaminase والأخير يعرف أحيانا باسم glutamic dehydrogenase وهذين التفاعلين

يمثلان الطريقين الوحيدين لتحول الأمونيا إلى مجاميع امينية كما هو مبين (بشكل ١١٦) . وهناك نوعان آخران من التفاعلات والتى يمكن عن طريقهما إدماج الأمونيا فى جزيئات بعض المواد . منها التفاعلات التى تعمل على إدماج الأمونيا فى جزيئات الأحماض الأمينية لتتكون اميدات مثـــل الاسباراجين والجلوتامين ونوعا آخر من هذه التفاعلات تندمج فيها الامونيا مع غاز ثانى اكسيد الكربون ليكونا جزيئات اليوريا الا أن هذا التفاعل الأخير لايتضمن الأمونيا الحرة بل يستعمل حمض الجلوتاميك أو الاسبارتيك كمواد ناقلة للامونيا . وعلى أى حال فان هذه التفاعلات بنوعيها ، أغنى تلك المسئولة عن تكون الأميدات أو اليوريا لا تؤدى إلى تكوين روابط أمينية . من ذلك نرى أن الطريقتين الوحيدتين المؤديتان إلى ذلك هما طريق الفيومارات والالفاكيتوجلوتارات (شكل ١١٦) .

طريق الفيومارات Fumarate gateway : ان طريق الفيومارات (شكل ١١٦) يعتمد كلية على حدوث تفاعل بين حمض الفيوماريك (وهو حمض غير مشبع ذو مجموعتين كربوكسيليتين (وغاز الأمونيا ، وأن هذا التفاعل يسفر من تكوين حمض الاسبارتيك . وهذا التفاعل عكسيا لايتضمن عمليات تبادل ايدروجين أو عمليات فسفرة . ويمكن تشبيه ذلك التفاعل بذلك الذى يختزل فيه حمض الفيوماريك إلى حمض سكسنيك ولكن يستعمل هنا الأمونيا كعامل اختزال بدلا من الايدروجين . ويجب أن نشير هنا إلى أن حمض الفيوماريك يعتبر من المركبات الهامة المكونة لدورة حمض الستريك (راجع شكل ١١٠) . وهذا قد يبين الارتباط بين التفاعلات الايضية للمواد الكربوايدراتية والبروتينية .

وحمض الاسبارتيك المتكون تستفيد منه الخلايا بواحد أو أكثر من الطرق التالية : (١) يدمج مباشرة فى جزيئات البروتين ، (٢)يتحول إلى أميد (اسبارجن) ، (٣)يتحول إلى أحماض أخرى بطريق transamination



شكل ١١٦ : الطرق المؤدية إلى تحول الامونيا إلى مجاميع أمينية أو أميدية .

فى وجود الأحماض الكيتونية مثل حمض الالفاكيتوجلوتيريك ليكون حمض الجلوتاميك وينفرد حمض الأكسالاستيك والأخير يمكنه أن يختزل إلى حمض الماليك والذى بدوره يفقد جزىء من الماء ليتحول إلى حمض فيوماريك (راجع دوره حمض الستريك شكل ١١٠) . وحمض فيوماريك الناتج يتحد مرة ثانية بالامونيا مكونا حمض اسبارتيك ، (٤) يمكن لحمض الاسبارتيك أن يفقد مجموعته الأمينية حيث ينتج عن ذلك حمض فيوماريك + أمونيا .

طريق الكيتوجلوتارات Ketoglutarate gatewey

يعتمد هذا الطريق (شكل ١١٦) ، على التفاعل الذى يتضمن إضافة هيدروجين (hydrogenation) وامونيا إلى المركب الفاكيتوجلوتاريك ونتيجة لذلك يتكون حمض الجلوتاميك . والانزيم المسئول يعرف باسم glutamic deaminase أو glutamic dehydrogenase ويكون مرتبطا بالمرافق الانزيمى DPN أو TPN تبعا لنوع الكائن البكتيرى . وكما هو مبين بالمعادلة التالية يلاحظ أن تكون حمض الجلوتاميك يتم عن طريق الفعل العكسى للانزيم المذكور .

حمض جلوتاميك	جلوتاميك دهيدروجيناز (TPN) −٢ يد ⇌	حمض إمينوجلوتاميك	+ يد٢ا (TPN2H) ⇌	الفاكيتوجلوتاريك	
ك اا يد		ك اا يد		ك اا يد	
ك يد٢		ك يد٢		ك يد٢	
ك يد٢		ك يد٢		ك يد٢	+ ن يد٣
ك يد ن يد٢		ك = ن يد		ك = ا	
ك اا يد		ك اا يد		ك اا يد	

وعلاوة على ذلك يمكن لمزيد من الأمونيا التحول إلى مجاميع اميدية حيث يمكن تكون المركب الأميدى جلوتامين . وتكوين الاميدات عموما يؤدى غرضين هامين للخلية (١) توفر وسيلة لتخزين الامونيا داخل الخلايا (٢) توفر احيانا طريقة لدخول الأمونيا أو حمض الجلوتاميك أو الاسبارتيك إلى الخلية . ومن المعروف أن حمض الجلوماتيك لا يمكنه المرور خلال جدر الخلايا الموجبة لصبغة جرام ولكن عندما تتوفر الأمونيا والطاقة يتحول هذا الحمض إلى الأميد المقابل (جلوتامين) وهذا الأخير له القدرة على النفاذ خلال جدر وأغشية هذه الخلايا . وقد يكون للاميدات وظائف أخرى للخلايا غير تلك السابقة الذكر الا أنها لا زالت غير معروفة .

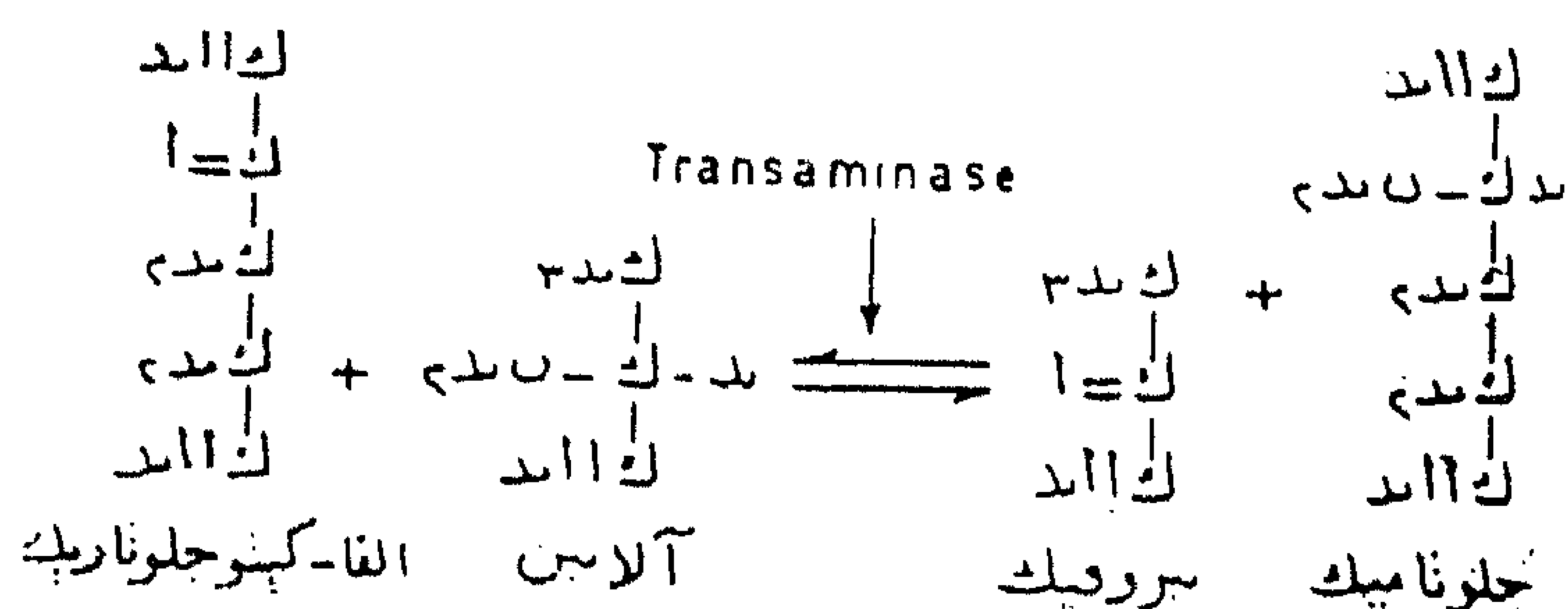
التفاعلات العامة للأحماض الأمينية: General reactions of amino acids

إن تحول جزىء الأمونيا إلى مجموعة أمينية ، يؤهله إلى الدخول فى

عديد من التفاعلات . البعض منها يعتبر تفاعلات عامة لجميع الأحماض الأمينية فى حين أن البعض الاخر يكون تخصصيا بمعنى أنهـا لا تحـدث إلا لأحماض امينية معينة . وسوف نناقش هنا التفاعلات العامة للأحماض الأمينية .

١ — عمليات التحول الأمينية Trnsamination

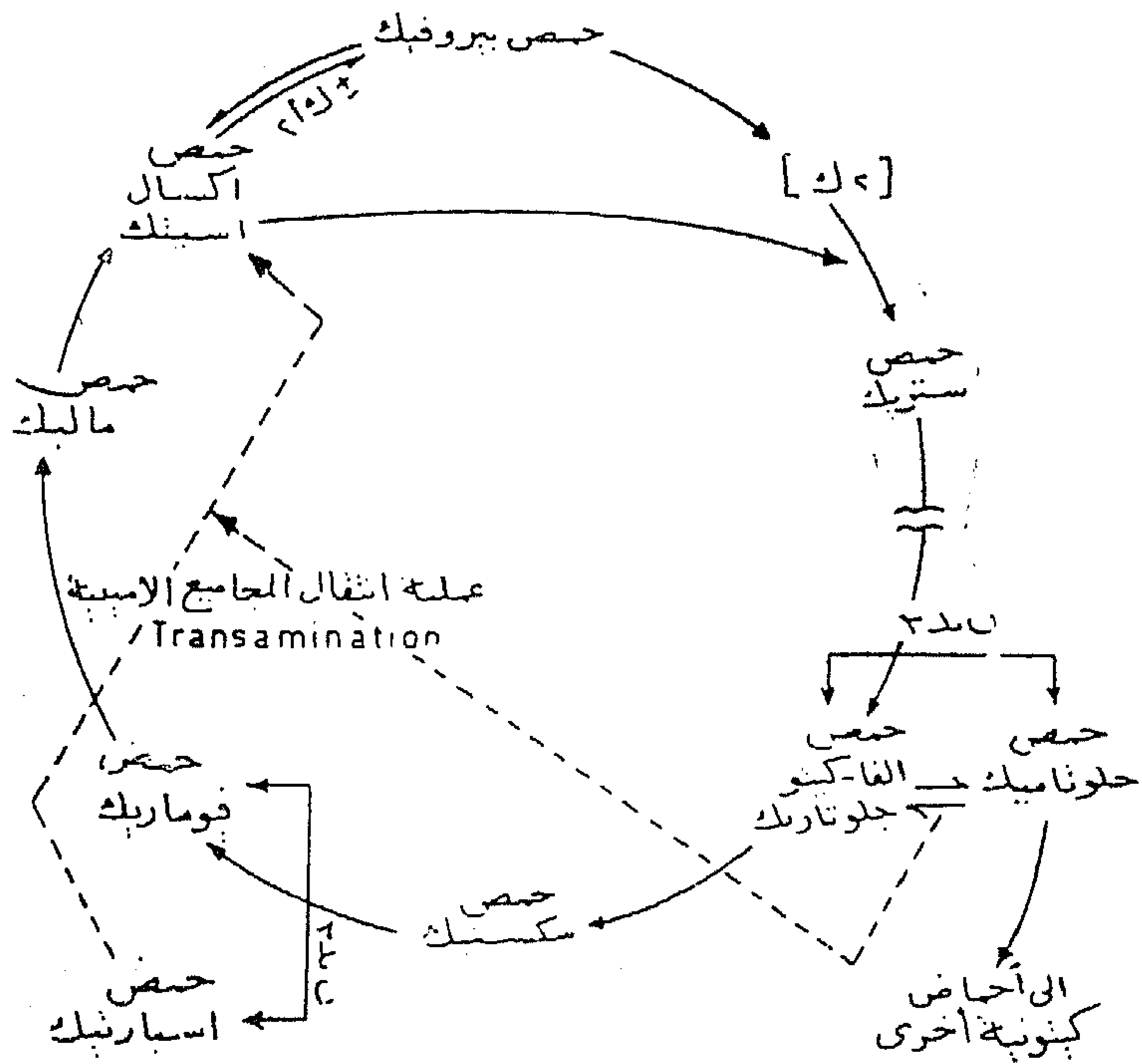
من المعروف أن حمض الجلوتاميك يعتبر حجر الزاوية فى تكوين الأحماض الأمينية المختلفة بالخلايا البكتيرية . وتحتوى البكتيريات على مجموعة من الا نزيمات تعرف باسم transaminases يمكنها أن تساعد فى عملية تبادل المجاميع الأمينية من جزيئات حمض الجلوتاميك إلى جزيئات الأحماض الكيتونية التى تتواجد بالخلية . فمثلا إذا تواجد بالبيئة حمض البيروفيك « وهو حمض كيتونى » يمكن لمجموعة الأمين المتواجدة بحمض الجلوتاميك أن تنتقل اليه مكونة حمض أمينى جديد هو الآنين Alanine ، وفى نفس الوقت يتحول حمض الجلوتاميك الذى نزعت مجموعته الأمينية إلى حمض كيتونى هو حمض الفاكيتوجلوتاريك كما هو مبين بالمعادلة التالية :



وعندما يوجد أى حمض أمينى مع المرلوتيريك "جالفا — كب كتيوى وجودخلايا بكتيرية معينة أو مستخلصاتها يمكن الحصول على حمض جلوتاميك والصورة الكيتونية من الحمض الأمينى المستعمل . وقد يبدو الأمر مقنعا بأن هذه الطريقة هى المسئولة عن تخليق الأحماض الأمينية أو على الأقل تكـون

ذات أهمية فى توفير المجاميع الأمينية ، ولكن لازال الأمر غير واضح بدرجة يمكن معها التقرير بأن هذه العملية مسئولة عن تكوين جميع الأحماض الأمينية فمثلاحمض التربتوفان يتكون بالخلايا نتيجة لتكدس الاندول مع الحمض الأمينى سيرين serine ، وأن الحمض الأخير يتكون عن طريق حمض أمينى آخر هو الجليسين .

ولعملية الـ transamination أهمية أخرى غير تخليق الأحماض الأمينية فهى توفير الأحماض الكيتونية الجديدة بالخلية والتى يمكن للخلية أن تستفيد منها فى أغراض أيضية أخرى و (شكل ١١٧) يبين كيف يمكن تحول الأحماض الأمينية إلى مواد ذات أهمية فى التفاعلات الايضية للكربوايدرات وقد وجد أن فيتامين ب ٦ (البيردو كسالفوسفات pyridoxal phosphate



شكل ١١٧ : العلاقة بين التحولات الايضية لكل من الأحماض الأمينية والكربوايدرات .

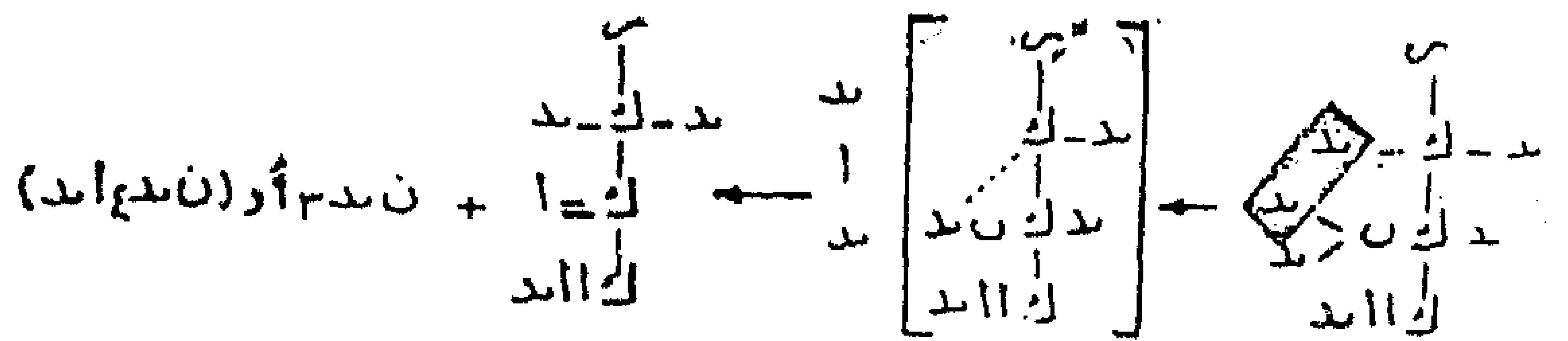
هو المرافق الانزيمى الخاص بانزيمات نقل المجاميع الأمينية transaminases .

٢ — تفاعلات ازالة ثانى أكسيد الكربون Decarboxylation

هى المسئولة عن ازالة جزيئات من ثانى اكسيد الكربون من المجاميع الكربوكسيلية للحمض الأمينى الذى يتحول بعد ذلك إلى الأمين المقابل respective amine وتعرف هذه العملية باسم decarboxylation ويساعد فى هذه التفاعلات الانزيمات المعروفة باسم amino - acid decarboxylases ، وقد ثبت وجود مثل هذه الانزيمات بخلايا البكتيريا كما وجد أن منها ما يختص بازالة (ك١٢) (من حمض الأرجنين محولا إياه إلى اجماتين agmatine وآخر يختص بازالة (ك ١ ٢) من حمض الهيستدين محولا له إلى هيستامين ، وآخر خاص بالأورنيثين كما أمكن عزل الانزيمات المزيلة (ك١٢) والخاصة بالأحماض الأمينية الأخرى مثل التيروسين محولا إياه إلى تيرامين Tyramine ، وحمض الجلوتاميك محولا له إلى أحماض جاما — أمينوبيوتريك ، وحمض الاسبارتيك ووجود مثل هذه الانزيمات بخلايا البكتيريا يؤدى إلى تكوين الامينات المقابلة ، الا أن الأهمية الفسيولوجية لهذه الأمينات لخلايا البكتيريا لا زالت غير معروفة وقد لوحظ أن الأمينات المتكونة قد تتأكسد فيما بعد فى خلايا بعض البكتيريات الا أن هذه العملية ليس لها أهمية فسيولوجية تستحق الذكر . وقد وجد أيضا ان فيتامين « ب ٦ » (pyridoxal phosphate) يعمل كمرافق انزيمى لهذه المجموعة من الانزيمات .

٣ — تفاعلات فصل المجاميع الأمينية : Deamination

تعتبر هذه من التفاعلات العامة للأحماض الأمينية التى مازالت أهميتها



شكل ١١٨ : طريقة عمل الانزيمات amino - acid oxidases

الفسيولوجية للخلايا غامضة . وتضمن هذه التفاعلات أكسدة الأحماض الأمينية فى موضع المجاميع الأمينية كما هو مبين (بشكل ١١٨) .

ويعمل فى هذه العملية مجموعتان من الانزيمات تلك التى يتخصص فعلها على المشابهات ديكستر و (D) من الأحماض الأمينية والأخرى على المشابهات ليفو (L) من هذه الأحماض .

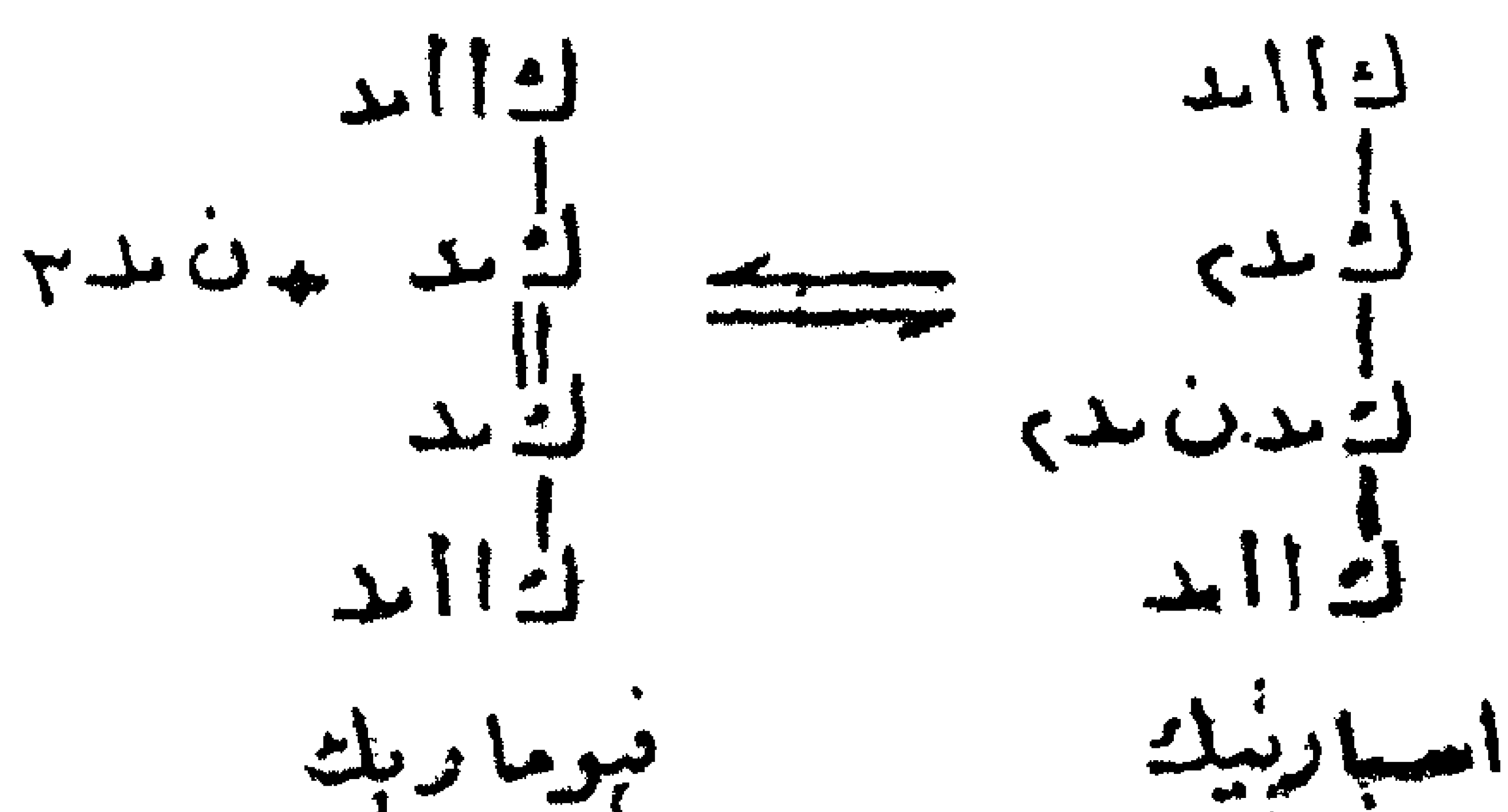
وتختلف الانزيمات التابعة لأفراد أى من المجموعتين تبعا لنوع الكائن الحى . وعموما فان هذه الانزيمات قد تهاجم المشابهات (L)أو (D) على سرعات مختلفة فيما عدا الحمض الأمينى جليسين والذى له انزيمه التأكسدى الخاص حيث أن هذا الحمض على أى صورة من (L) أو (D). وكذلك يشذ عن ذلك ، حمض الجلوتاميك والسيرين وأحيانا تلك الأحماض الأمينية المحتوية على كبريت فيما عدا الثيرينون التى تهاجم بمثل هذا النوع من الانزيمات

من الواضح جدا أن الانزيمات amino acid oxidases ما هى الا انزيمات ازالة الايدروجين dehydrogenases حيث تنطلق الأمونيامن المجاميع الأمينية نتيجة لفعلها .

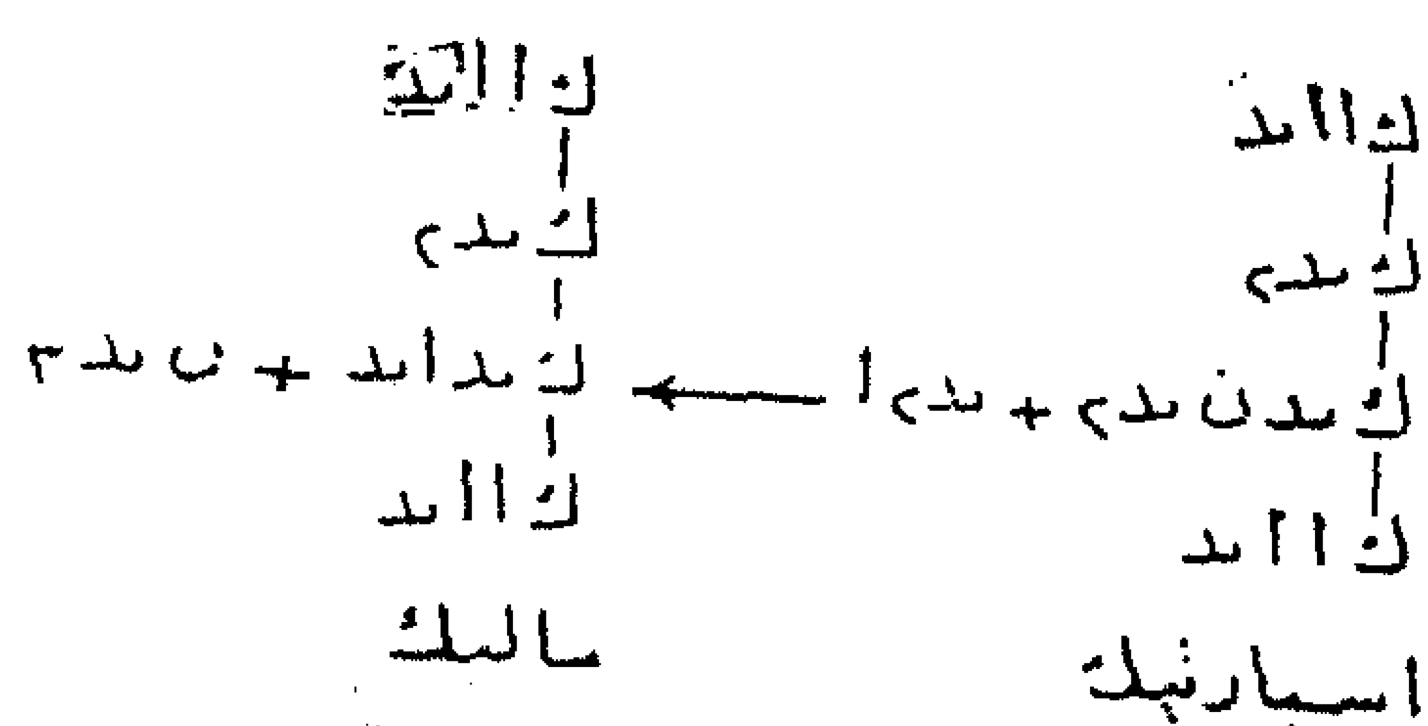
وعملية ازالة المجاميع الأمينية قسمت قديما إلى أربعة أقسام تبعا للطرق التى تتم بها :

١ ــ طريقة تأكسدية oxidative وينتج عن ذلك حمض كيتونى + أمونيا كما هو مبين (بشكل ١١٨) .

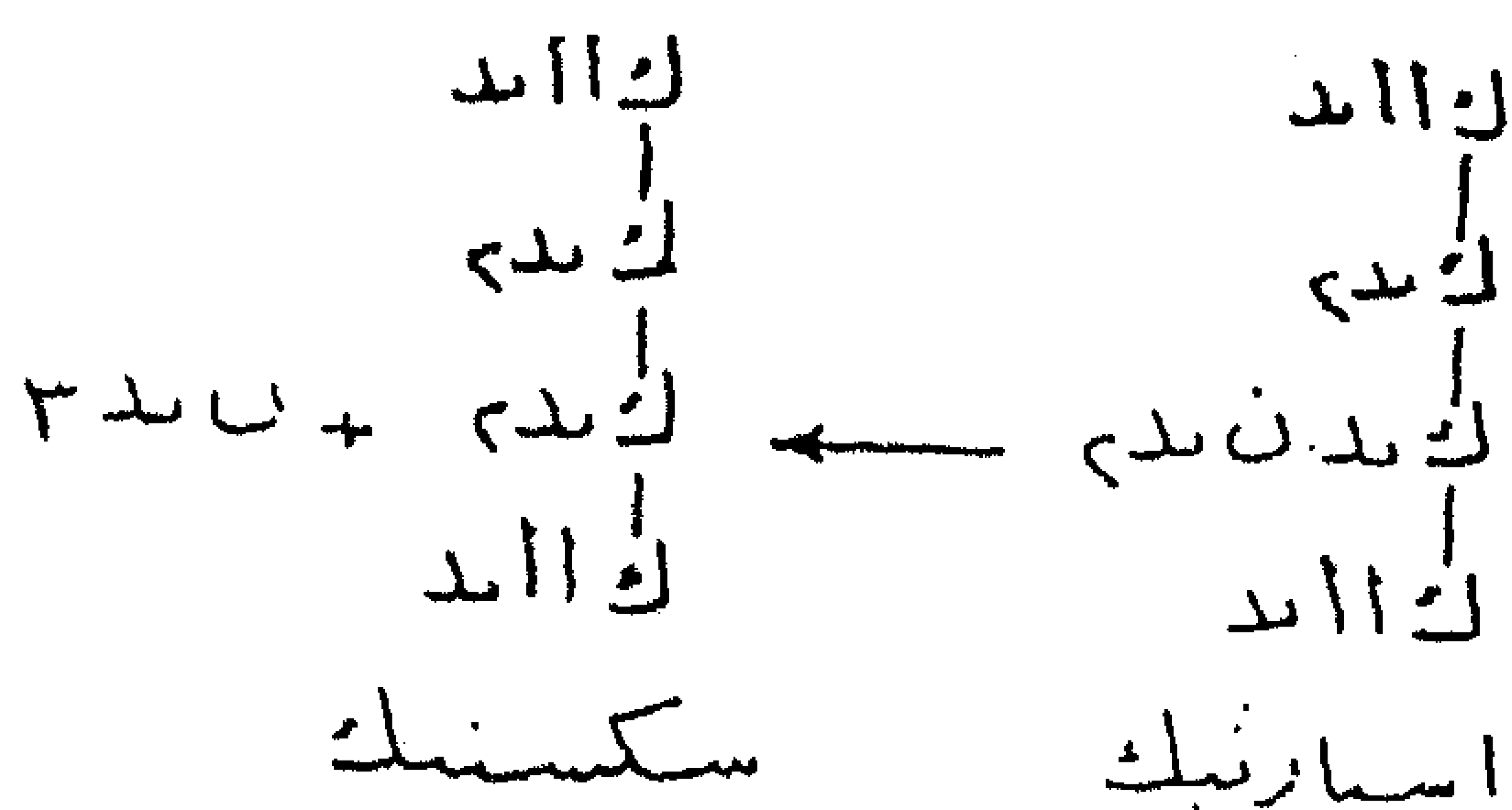
٢ ــ طريقة غير تشبعية Desaturating وفيها يتكون حمض غير مشبع أمونيا كما فى المثال التالى



٣ – طريقة يضاف فيها جزىء ماء للحمض الأمينى hydrolytic ويؤدى إلى انفصال الأمونيا مع تكوين حمض هيدروكسى .



٤ – طريقة اختزالية reductive وفيها يتكون حمض مختزل + أمونيا . وتتم هذه الطريقة عادة بالكائنات الهوائية اجبارا .

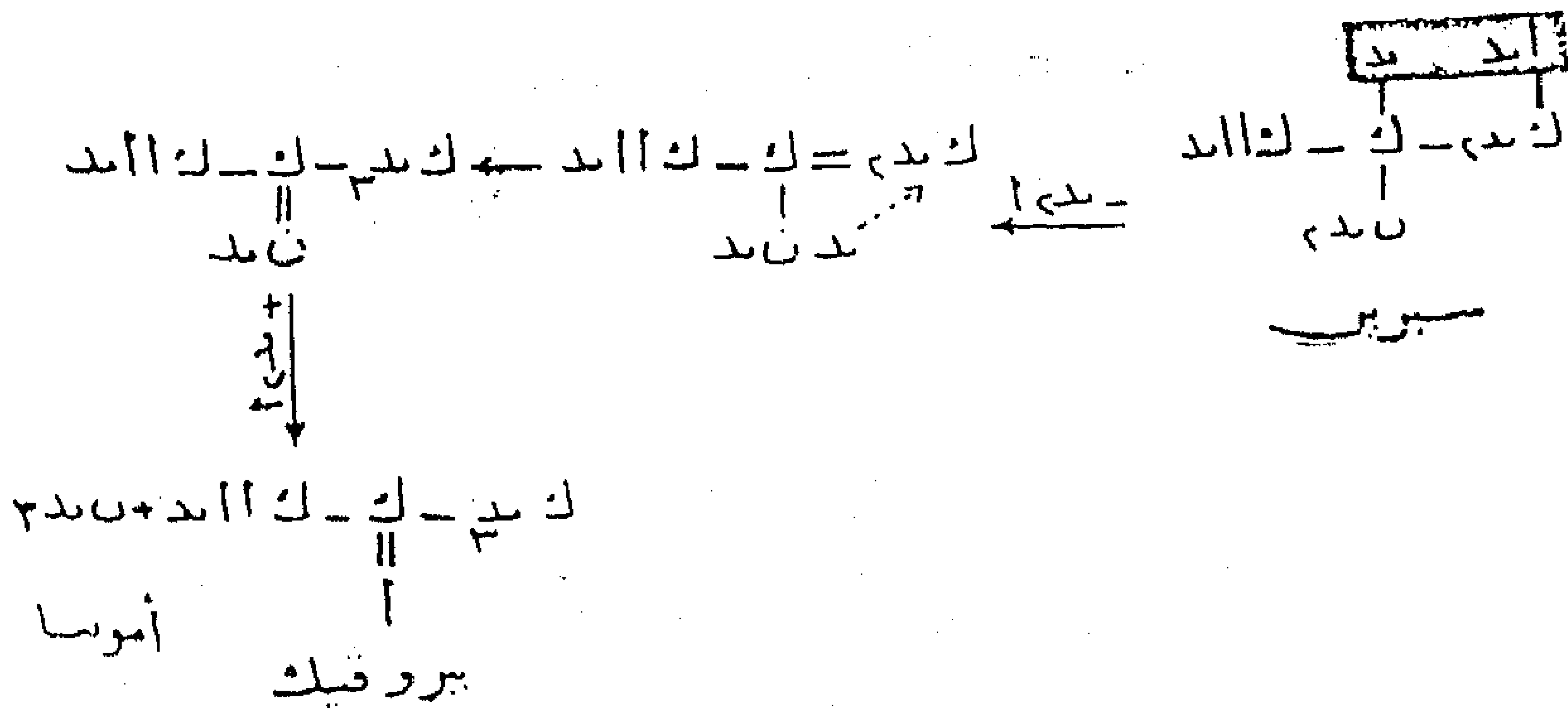


ويبدو أن تقسيم العملية بهذه الطريقة قد تم على أساس الجزىء المتبقى من الحمض الأمينى بعد أزالة مجموعته الأمينية وليس طبقاً لعملية الازالة نفسها. الا أنه قد أمكن حديثا ايجاد تقسيما آخر مبنيا على أساس آخر هو كمايلى :

١ — الازالة الهوائية لمجاميع الامين Aerobic deamination : وهذه الطريقة تتضمن الانزيمات amin oacid oxidases والتى تكون مرتبطة مباشرة بالاكسجين . لذلك فهى تتم ببطء شديد جدا تحت الظروف غير الهوائيـــة وينشأ عن هذه الطريقة احماض كيتونية + أمونيا + يدم ا م. ولم يلاحظ بعد عكسية هذه التفاعلات كما أنها تهاجم كل من المشابهات (L) ، (D) على السواء . وهى تعمل على عدد من الأحماض الأمينية الآتى بيانها والمرتبـــة ترتيبا تنازليا حسب درجة نشاط الانزيمات الخاصة بها : ميثايونين ، فينيـل آلانين ، تايروسين ، ليوسين ، ايزوليوسين ، فالين ، نورفالين ، تربتوفان سيرين .

٢ — جلوتاميك دى اميناز Glutamic deaminase : والذى يعرف أيضا باسم glutamic dehydrogenases : انزيم غير هوائى مرتبط بالمرافق الانزيمى DPN أو TPN ، ويتكون نتيجة لفعله المركب الفا — كيتوجلوتاريك والتفاعل العكسى لهذا الانزيم يمثل طريق هام لتحول الأمونيا إلى مجاميـــع أمينية

٣ — اسبارتيك دى اميناز Aspartic deaminase والذى يعرف أيضـــا باسم aspartase : لا يحدث فى تفاعلاتها تبادل للايدروجين ، يتكون حمض مشبع وهو الفيوماريك . كما أن التفاعل لهذا الانزيم يفتح طريق هام آخـــر لتحول الأمونيا إلى مجاميع أمينية .



٤ — إنزيمات تعمل بطريقة تجفيفية dehydrative deaminases ويقتصر فعل هذه الانزيمات على بعض الأحماض الأمينية مثل السيرين والثريونين والستايين cysteine تفاعلاتها غير هوائية وغير عكسية .

هذا وهناك انزيمان آخران يمكنهما مهاجمة مجاميع الجوانيدين . وليس مجاميع الأمين ، والتي تتواجد بالحمضين الأمينيين ارجنين والستريولين .

تفاعلات خاصة بأحماض أمينية معينة :

ان كل الأحماض الأمينية تكون معرضة لحدوث التفاعلات العامة السابقة الذكر ، إلا أن هناك بعض التفاعلات التي يختص بها حمض اميني معين أو مجموعة صغيرة من الأحماض الأمينية ولاظهار مثل هذه التفاعلات يجب أن نستعرض الأحماض الأمينية المختلفة واحدا تلو الآخر ونبين تفاعلاته الخاصة :

١ — الجليسين Glycine : مازال غير معروف كيفية تخليقه بالخلايا الا أنه يقترح أن هناك طريقتين ، الأول يفترض أن إضافة مجموعة ميثيل جديدة إلى الجليسين ينتج عنه تكوين حمض السيرين وأن ذلك لوحدث فى الاتجاه المضاد يمكن أن يكون جليسين مرة أخرى ، والطريق الثانى يبين امكان حدوث عملية transamination كطريقة لانتاج هذا الحمض . وحمض الجليسين هام جدا لتخليق البيورينات وبعض الصبغات التى تتواجد ببعض البكتيريات التى تعرف porphyrin pigments

٢ — الآنين Alanine : يمكن أن يقوم بكل التفاعلات العامة . الا أن هناك انزيم الراسيماز الذى يحول الصورة (D) ⟵ (L). وغالبا يتكون هذا الحمض نتيجة لعملية transamination بين (البيروفيك + الجلوتاميك) .

٣ — سيرين Serine : يمكن أن تنقل الوحدة الكربونية الحاملة لمجموعة

الهيدروكسيل فى جزىء السيرين إلى جزيئات مركبات أخرى تاركة مركب ذو ذرتين من الكربون هو حمض الجليسين . كما أن السيرين يمكنه أن يتكون من الجليسين عن الطريق العكسى باضافة هذه المجموعة الكربونية إلى الجليسين كما سبق أن بينا . وفى الأنسجة الحيوانية يستعمل السيرين كمركب مبدئى ، لتكوين مركب الايثانول امين Ethanol amine عقب عملية decarboxylation

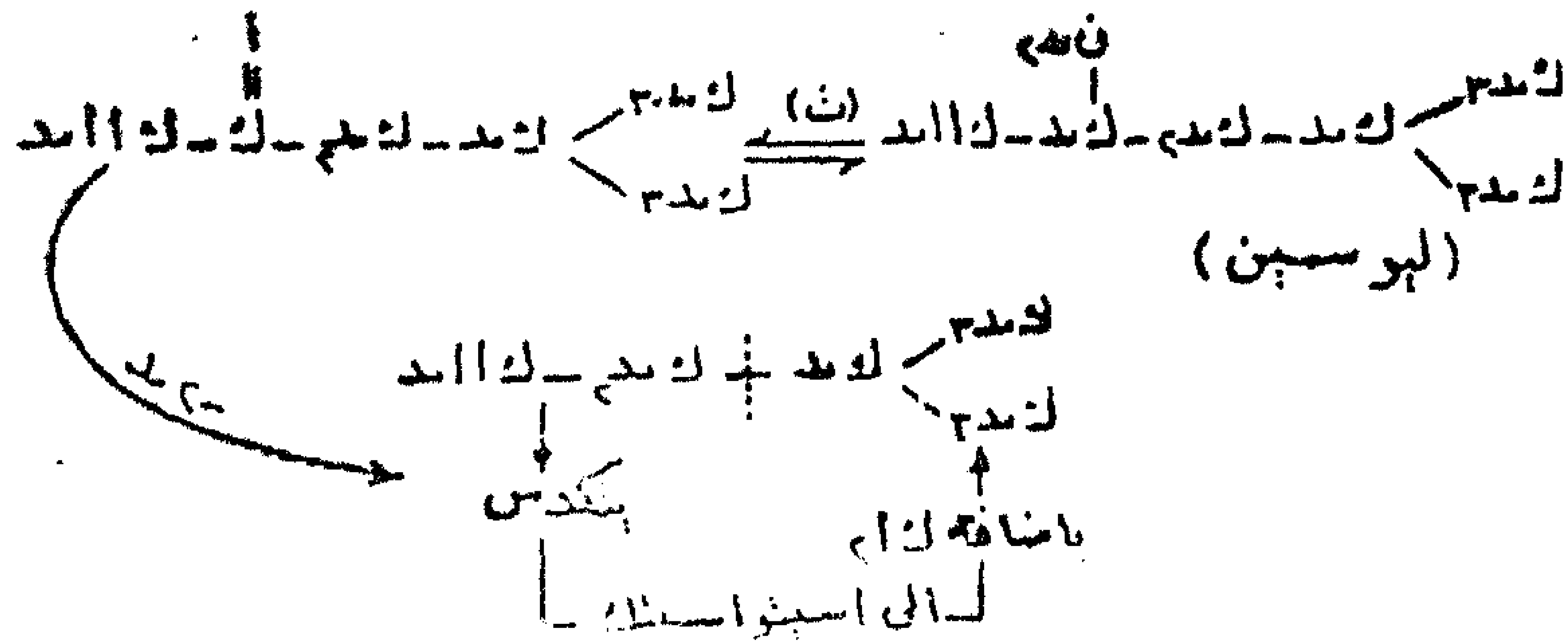
وإذا اتحد السيرين بمركب الأندول فانه ينشأ عن ذلك حمض التربتوفان الأمينى كما سنذكر فيما بعد . وفى الأنسجة الحيوانية يتفاعل السيرين أيضا مع مركب الهوموسيستاين homocysteine لتكوين المركب cystathionine وهذا التفاعل الأخير لم يثبت حدوثه بعد فى خلايا البكتيريا .

٤ — ثيريونين Threonine : يدخل فى تركيب البروتينات ويحدث له كل التفاعلات العامة . ليس له تفاعلات خاصة .

٥ — السيستين والسيستايين Cystine &Cysteine : سبق بيان أهميتها فى تكوين cystathionine فى الأنسجة الحيوانية ويمكن لها أن تتحولا بهذه الطريقة إلى سيرين مرة أخرى . كما يمكنها أيضا أن تكون بعض الببتيدات النشطة مثل الجلوتاثيون glutathione .

٦ — الميثايونين Methionine : علاوة على التفاعلات العامة فان جزيئاته تعمل فى الأنسجة الحيوانية كناقلات لمجاميع الميثايل ، إلا أن مثل هذا الدور فى خلايا البكتيريا لازال غير معروف . كما أن عمليات تخليقه بخلايا البكتيريا مازالت غامضة أيضا .

٧ — فالين وايزوليوسين Valine & Isoleucine : تفاعلات عامة ويبدو أن هذه الأحماض الأمينية تتكون من حمض الخليك بطريق عكسى كما يظهر من التفاعلات المبينة (بشكل ١١٩) .



شكل ١١٩ : تحلل حمض الليوسين الأمينى إلى اسيتواسيتك . (ت)= transamination .

٨ — الليوسين Leucine : يبين (شكل ١١٩) طريقة تحلله إلى اسيتواستيك

٩ — الاورنوثين Ornithine : كل التفاعلات العامـة .

١٠ — السيترليولين Citrulline : نادرا مايشاهد فى جزيئات البروتين.

١١ — الارجنين Arginine : كل التفاعلات العامـة .

أن الثلاثة احماض الأمينية الأخيرة تكون مرتبطة ببعضها تماما كارتباط اللايسين ، والبرولين ، وحمض الجلوتاميك (شكل ١٢٠) . وبالرغم من أن التفاعلات التى تقتضى ارتباطها تفاعلات معقدة إلا أنه يلزم الاهتمام بهـا لأنها تبين علاقة الأحماض الأمينية ببعضها وكذا العلاقة بين التحولات الايضيـة للبروتينات والكربوايدرات ، كما أنها تبين طريقة تنظيم الخلايا لمحتوياتهـا الانزيمية . وحمض الاورنوثين يتحول إلى حمض سيترولين عقب اضافـة مجموعة اميدية

ن يد ٢
|
(ا = ك —) إلى جزيئاته ، وهذه المجاميع يمكن التحصل عليها من المركب كارباميل جلوتاميك أو مشتقاته (شكل ١٢٠) . والتفاعل العكسى (اعنى تحول السترولين إلى اورنثين) أمكن ملاحظته فى خلايا البكتيريا Streptococci

ويبدو أن هذا التفاعل له أهمية خاصة ، حيث تتكون نتيجة له رابطة فوسفوتية غنية بالطاقة . وحمض الكارباميل جلوتاميك يتكون من حمض الجلوتاميك الذى يكون فى حالة توازن مع حمض الاسبارتيك . والمركب الأخير يتدخل فى عملية تحول الستريولين إلى ارجنين . وحيث أن كل من حمضى الجلوتاميك والاسبارتيك تتكون نتيجة لتثبيت الأمونيا (شكل ١١٦) فان الخلايا الحيوانية تستغل هذه المركبات فى تحويل الأمونيا إلى يوريا تفرز خارج الجسم . وفى حالة البكتيريا عموما ، فان هذه العملية يبدو أنها عديمة الأهمية وأن تحول الارجنين إلى سيتريولين ثم إلى اورنوثين يبدو أنه يحدث فى الاتجاه المضاد . والارجنين يبدو أنه يتدخل فى تكوين حمض الالفااامينوادبيك α-amino adipic acid والذى يعتبر مركبا مبدئيا لحمض اللايسين ، كما يبدو أن حمض الارجنين يمكنه اعطاء مجموعة الجوانيدو إلى مركبات أخرى مثل الجليسين ليكون مركب الجوانيدواستيك والذى يعتبر اساسيا لتكوين الكرياتين creatine وهذا التفاعل الأخير يحدث فقط فى الأنسجة الحيوانية وليس بالبكتيريا .

وإذا رجعنا إلى الاورنوثين مرة أخرى فاننا نجد أنه عقب عملية إزالة مجاميع الأمين الطرفية منه تتكون مركبات وسطية تؤدى إلى تكوين حمض الجلوتاميك أو البرولين والأخير قد يتحول إلى اورنوثين مرة أخرى . (وشكل ١٢٠) يبين كيفية ارتباط كل هذه التفاعلات ببعضها وعلاقة هذه التفاعلات ببعض نواتج التحولات الايضية للكربوايدرات .

١٢ — اللايسين Lysine : يشترك فى كل التفاعلات العامة فيما عدا عملية ازالة المجاميع الأمينية . ويبدو أن هذا الحمض ينشأ من أحد مركبين الأول حمض داى امينوبيميليك diaminopimelic acid وهذا المركب لايتواجد إلا فى البكتيريا والطحالب الخضراء المزرقة . الا أن الاكتينوميسيتات قد تحتوى على مادة شبيهة به تكون محتوية على مجاميع ميثايل . وقد وجد أن البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام لاتحتوى على diaminopimelic acid

ويبدو أن هذا الحمض منتشر انتشارا واسعا فى البروتينات البكتيرية لأهميته فى تكوين الجدر الخلوية فى حين أنه يكون غائبا من البروتينات الأخرى . وحمض الداى امنوبيمليك يحتوى على مجموعة كربوكسيلية زائدة لذلك نرى أنه يمكن للايسين أن يتكون منه نتيجة عملية decarboxylation والتى امكن إثبات حدوثها فى البكتيريا *E. coli* وفى حالة الكائنات التى لاتحتوى على حمض داى امينوبيميليك فى بروتيناتها مثل فطر *Neurospora* فان حمض اللايسين يتكون بها عن طريق آخر وهو إضافة مجموعة امين إلى حمض الالفا امينو اديبيك α-amino adipic والذى قد يشتق من تحلل الارجنين كما هو موضح (بشكل ١٢٠)

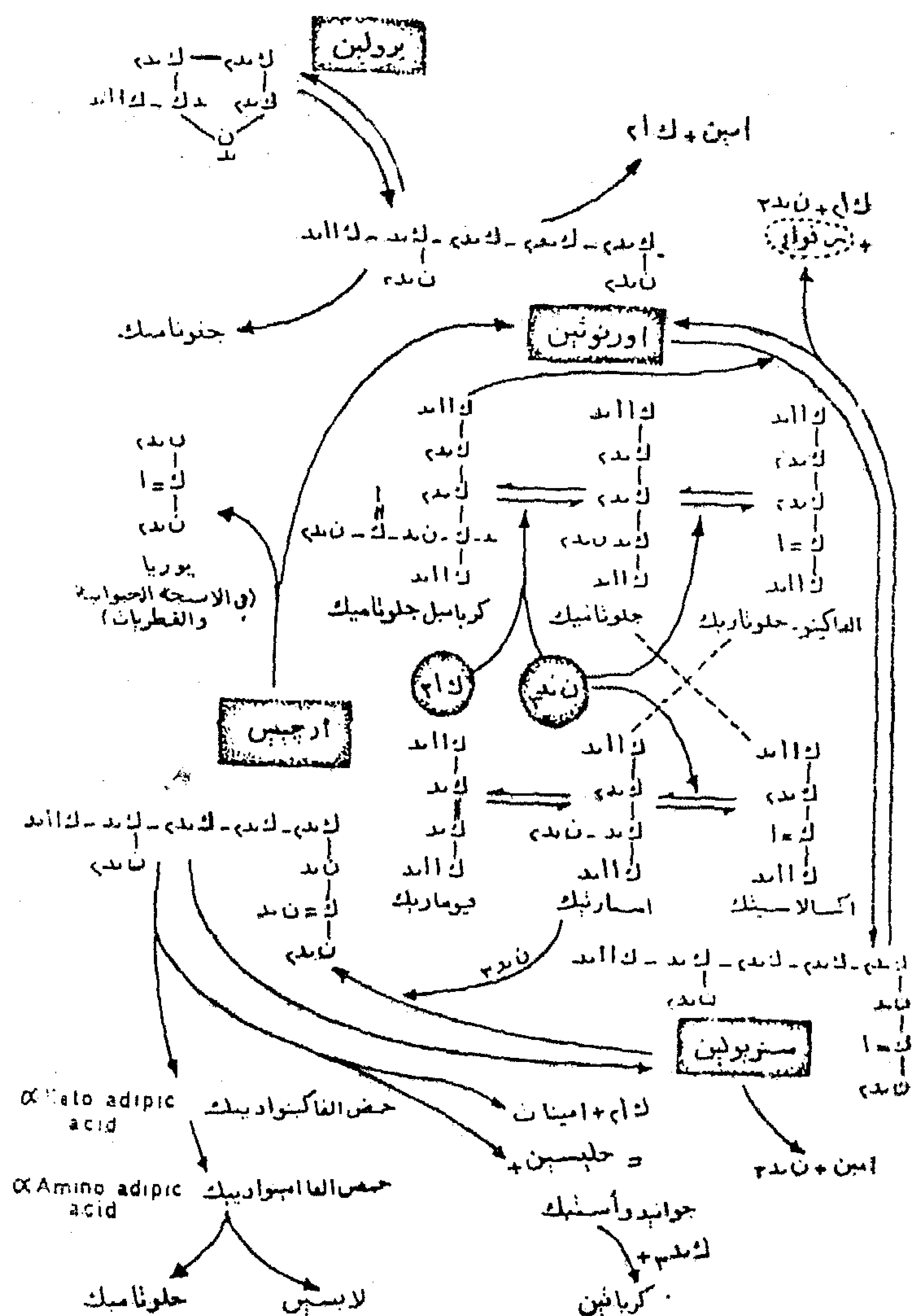
الأحماض الأمينية الحلقية :

هناك ثلاثة أحماض أمينية حلقية وهى الفينيل آلانين . والتريوسين ، والتربتوفان . تنشأ أساسيا من حمض الشيكيميك shikimic acid والذى سبق أن أشرنا إليه (الباب الرابع).

١٣ — حمض الفنيل الآنين phenylalanine : ينشـــأ من حمض . الشيكيميك كما يمكن له أن يقوم بكل التفاعلات العامة للأحماض الأمينية . علاوة عن امكان تأكسده ليتحول إلى التيروسين .

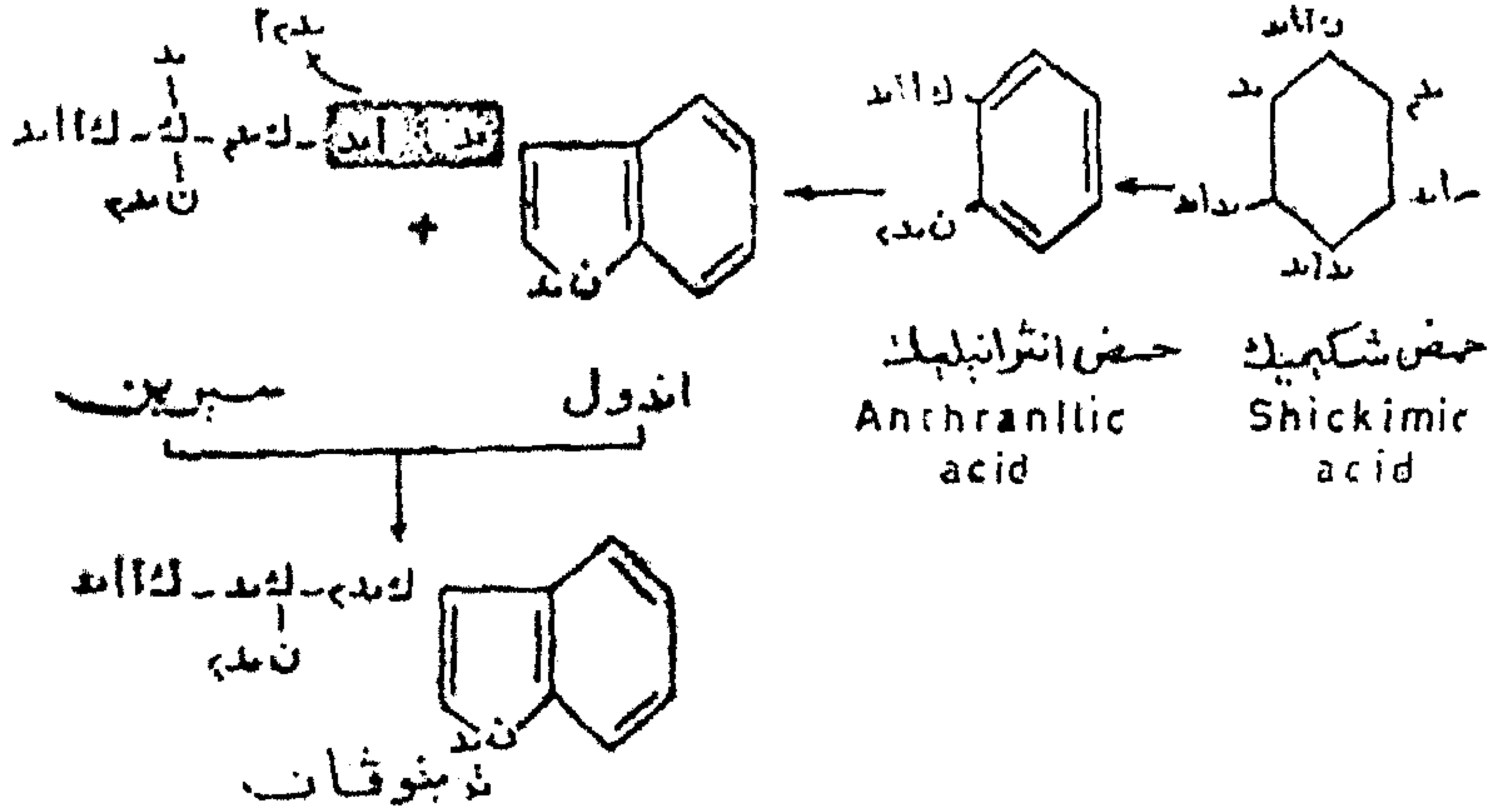
١٤ — تايروسين Tyrosine : يمكنه أن يقوم بكل التفاعلات العامـــة للأحماض الأمينية . وينشأ من الفنيل الآنين ، كما يمكنه أن يتأكسد ليكون عديدا من المركبات الوسطية بعضها عبارة عن صبغات سوداء أو برتقالية اللون .

١٥ — تربتوفان Tryptophane : يشترك فى كـل التفاعلات العامـــة فيما عدا عملية decarboxyldation ويتكون نتيجة لتكدس حمض السيرين الأمينى مع مركب الاندول . ومن المعروف أن بعض البكتيريات مثل *E. coli* يمكنها أن تنتج مركب الاندول إذا تواجد حمض التربتوفان الأمينى ببيئاتها .



شكل ١٢٠ : العلاقة بين الاورنثين ، والسيترپولين ، والارجنين ، ودورة اليوريا .

وهذا الأندول ينشأ نتيكة لانعكاس التفاعل الخاص بتخليق التربتوفان (شكل ١٢١) ، ولكن قد وجد بالبكتريات انزيم يعرف tryptophanase يمكنه أن يكسر جزيء التربتوفان إلى أندول وحمض بيروفيك وامونيا إنتاج حمض السيرين.



شكل ١٢١ : خطوات تخليق التربتوفان .

ويعمل التربتوفان كمادة مبدئية لتكوين المركب الهرمونى المعروف باسم حمض الاندول خليك indole acètic acid الذى تكونه بعض البكتيريات والذى يمكنه أن يتحلل بواسطة البكتيريات الهوائية إلى مركبات عديدة من ضمنها حمض كينولينيك Quinolinic acid وكذلك إلى حمض ، النيكوتينيك Nicotonic acid .

١٦ — البرولين Proline : يحدث له كل التفاعلات العامة فيما عدا الـ decarboxylation كما يعمل كمركب مبدئى فى تخليق الأورنوثين كما سبق أن بينا .

١٧ — هيدروكسى برولين Hydroxyproline : يتواجد هذا المركب دائما بين مخلفات هضم البروتين وبالرغم من ذلك لايوجد كائن حى دقيق يحتاج فى نموه إلى إضافة هذا المركب . وقد وجد أنه عند توفير هذه المادة ، (بعد تعليمها بالنظائر المشعة) بالأنسجة الحيوانية فانها لاتدخل فى تكوين البروتينات ، الأمر الذى يدعونا إلى الاعتقاد بأن هذا المركب لايتواجد على صورته المعتادة بالبروتينات الكاملة ولكنه يشتق من مركبات أخرى عند تحلل البروتينات نفسها .

١٨ — الهيستدين Histidine : يشترك فى كل التفـــاعلات العامة للأحماض الأمينية فيما عدا عملية إزالة المجاميع الأمينية . وحلقة الايميدازول imidazolering المحتوى عليها ، والتى تشبه كثيرا فى تركيبها البريميدينات ، تشتق من حمض الفورميك إلا أن كيفية تخليق باقى مكونات جزىء الهيستدين لازالت غير معروفة .

وعقب عملية decarboxylation التى تحدث لهذا الحمض الأمينى فانه ينتج مركب الهيستامين والذى يمكنه أن يفقد مجموعة الأمين deaminated ليكون الدهيد الايميدازول imidazole aldhyde الذى يتأكسد فيما بعد. وبالرغم من التشابه فى تركيب الهيستدين والبيورينات إلا أنه لايدخل فى تركيبها إطلاقا .

بناء البروتين .

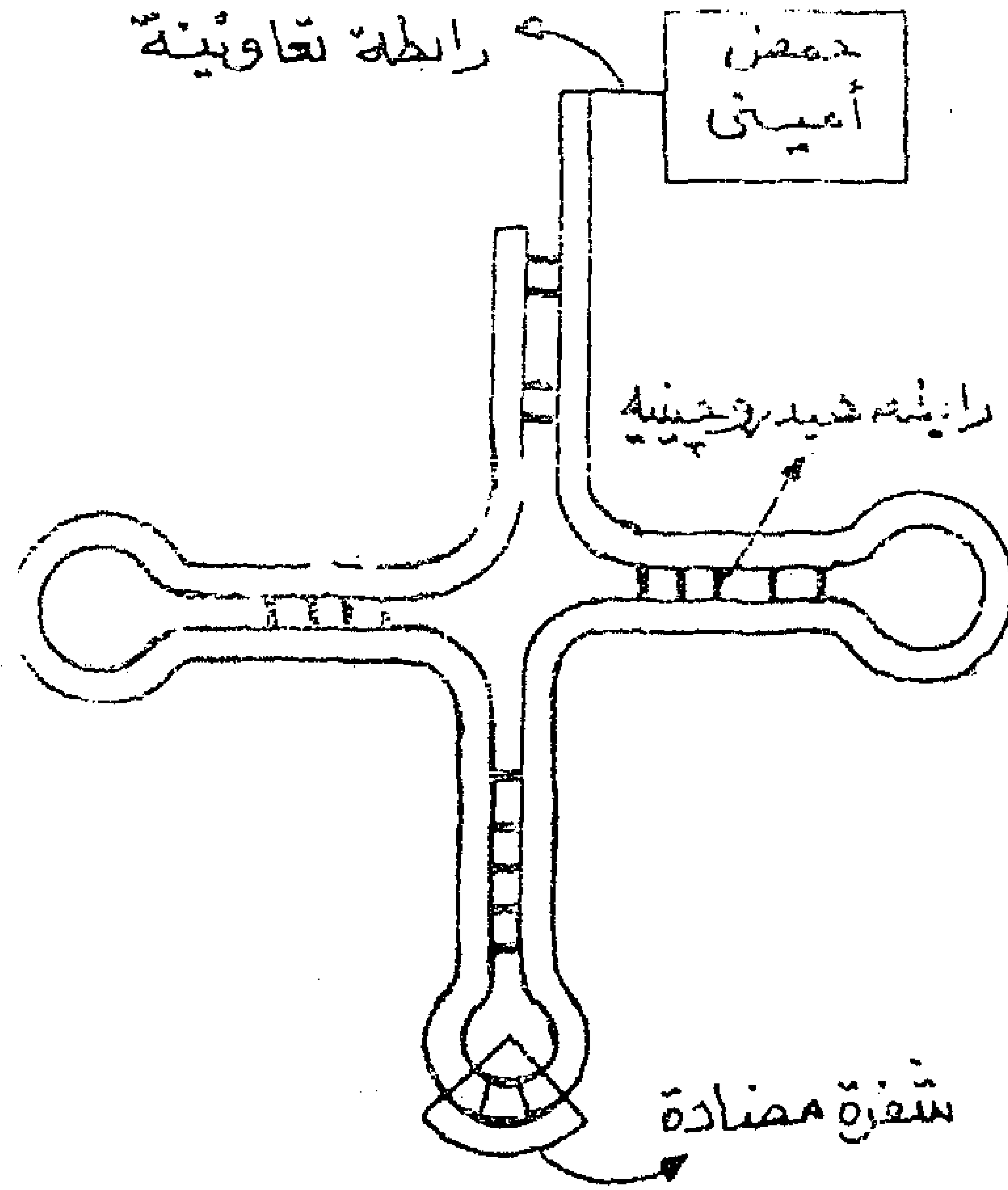
إن تتابع البيورينات والبريميدينات فى تركيب الDNAالمكون للجينات هو المسئول عن المعلومات الوراثية الموجودة فى الخلية وأن أول خطوة فى التعبير عن الجين هى عمليـة النسخ transcriptoin إذ يرتبـــط إنزيم RNA polymerase بالـDNAالمكون للكروموسوم البكتيرى بالقرب من بداية الجين (أى بداية النيكليوتيدات المكونه للجين) ثم يتحرك على إمتداده ويتخلق شريط مفرد من جزىء الRNAوالذى يكون مكملا لشريط مفرد من ال DNA. ويطلق على جزىء ال RNA هذا إسم RNA رسول (messenger RNA أو m.RNA) بعدذلك يترجم تتابع البيوريناتوالبريميدينات فى ال RNAرسول إلى تتابع للأحماض الأمينية فى جزىء البروتين المتكون والذى يتحكم فى تركيبه الشفرة التى يحملها الجين . ويشتمل هذا النظام على عدة إنزيمات وعـــوامل بروتينية protein factors وطرازين آخرين من ال RNA هما RNA الناقل (transfer RNA أوtRNA) و RNA الريبيـوسومى (r RNA أو ribosamalRNA). ومن الملاحظ أن الخطوات الخاصة ببناء البروتين فى الخلية

تستهلك مايقرب من ٩٠٪ من الطاقة الكلية بالخلية البكتيرية النامية وتتلخص الخطوات الأساسية لبناء البروتين فيما يلى : —

الخطوة الأولى : يتم تنشيط جزيئات الأحماض الأمينية المختلفة عن طريق تكوين رابطة غنية بالطاقة بين الحمض الأمينى وجزىء RNA الناقل ويلزم لتنشيط الحمض الأمينى activating enzyme تختلف بإختلاف الحمض الأمينى . بمعنى أن لكل حمض أمينى مجموعة من جزيئات الـ RNAالناقلة . وفى حالة بعض الأحماض الأمينية المعينة فإنها تحمل بواسطة عديد من جزيئات الـRNA الناقل المختلفة . فهناك خمسة أنواع من هذه الجزيئات لها القدرة على الإتصال وحمل نفس الحمض الأمينى . وبكل جزىء من الـ RNAالناقل يوجد ترتيب معين للنيوكليوتيدات أحد هذه الترتيبات تحدد الحمض الأمينى الذى يرتبط به ومجموعة أخرى تكون مكملة لترتيب القواعد فى جزىء الRNAرسول والمجموعة الأخيرة تتكون من ثلاثة نيوكليوتيدات ويطلق عليها إسم الشفرة المقابلة أو المضادة anticodon نظرا لأنها مكملة للشفرة العادية المعروفة ، باسم Codon والتى هى عبارة عن ثلاث قواعد فى الRNAرسول والتى تعنى RNA حمض أمينى معين وشكل ١٢٢ يوضح تركيب الRNA الناقل . ومن الملاحظ أن جزىء الRNA الناقل عموما يتخذ شكل ورقة البرسيم وتتكون من حوالى ٧٠ نيوكليوتيدة .

الخطوة الثانية : يرتبط الريبوسوم بطرق جزىء الRNA رسول عندموقع مبدئى معين ولهذا الموقع أهمية خاصة حيث تبدأ عنده ترجمة الRNA رسول للإطار الصحيح للشفرة .

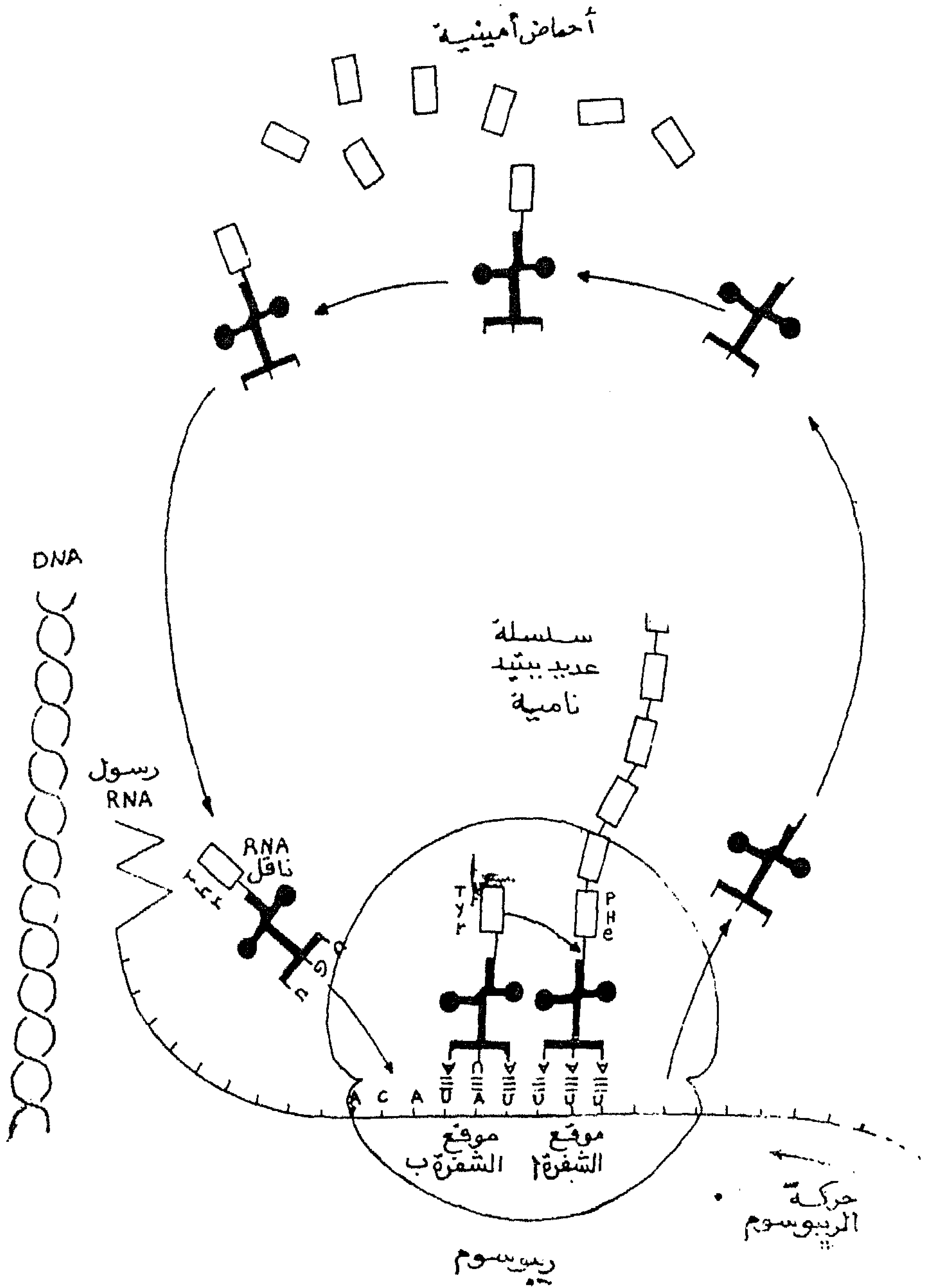
الخطوة الثالثة : يتلازم الـ RNAالناقل والذى يحمل الحمض الأمينى مع الريبوسوم ويرتبط جزىء الـ RNA الناقل مع الريبوسوم فى مكان معين حيث أن الشفرة المقابلة anticodon تكون مكملة للشفرة الخاصة بالRNAرسول .



شكل ١٢٢ : تركيب الـ RNA الناقل .

وعندما يثبت الحمض الأميني المحمول بواسطة الRNA الناقل فى هذا الموضع المحدد فإنه يوجد إنزيم يساعد فى تكوين رابطة ببتيدية بين مجموعتي الكربوكسيل والأمين لإثنين من الأحماض الأمينية لجزئيين متجاورين من الRNA الناقل . تحرر عقب ذلك الحمض الأميني من الRNA الناقل ثم يتحرك الRNA الناقل الخالى بعيدا عن الريبوسوم ليرتبط بحمض أميني آخر .

الخطوة الرابعة : يتحرك الـ RNAرسول على إمتداد الريبوسوم خلال مسافة ٣ نيكليوتيدات (شفرة واحدة) وعلى ذلك فإن الشفرة التالية للRNAرسول تكون فى وضع يسمح بإرتباطها بجزىء من الـRNA الناقل . وعلى ذلك فإنه بتحرك الRNA رسول على إمتداد الريبوسوم فإن ريبوسومات أخرى تتصل بطرف الRNA رسول . وأن ٥ أو ٦ ريبوسومات يمكن أن تتصل بمواقع مختلفة لنفس جزىء الـ RNA رسول لتكون عديد الريبوسوم polyribosame (شكل ١٢٣) .



شكل ١٢٣ : خطوات بناء البروتين

الخطوة الخامسة : تنمو السلسلة الببتيدية بإضافة الأحماض الأمينية ولبناء سلسلة ببتيدية نموذجية يحتاج الأمر إلى تكرار الخطوات من ١ إلى ٤ ، ٣٠٠ مرة لتخليق سلسلة كاملة . ويتم تخليق سلسلة ببتيدية كاملة على كل ريبوسوم ويبدأ ذلك عندما يتصل الريبوسوم ببداية (أحد الأطراف) جزيء الRNAرسول وينتهي عندما يصل الريبوسوم عند إشارة محددة للتوقف (Stop signal) عند هذه الإشارة فإن سلسلة عديد الببتيد تنفصل عن طرف جزيء الا RNA الناقل . وأن الـRNA رسول يواصل تحركه عرضا على سطح الريبوسوم وتخلق سلسلة ببتيدية أخرى بتكرار الخطوات من ١ الى ٥ .

المراجع

Bergmann. M. and J. S. Fruton. 1941. The specifcity of proteinases Advances in Enzymolo., 1 : 63.

Bergmann. M. 1942. «A. classifcation of Proteolytic enzymes. Advances in Enzymol. 2 : 49.

Blasckhko, H. 1954. The animo acid decarboxylases in mamalian tisues. Advances in Enzymolo. 5 : 67.

Gale, E. F. 1940. Enzymes concerned in the primary utilization of Amino acids by bacteria. Bact. Rev., 4 : 135.

Gale, E. F. 1946 «Amino - acid decarboxylases» Adv. in Enzymol. 6 : 1

Gale, E. F. 1947. Netrogen metablolism, Ann. Rev. Microbiol 1 : 141.

Gale, E. F. 1952. The chemical activities of bacteria. Academic Press, Inc. New York. University Tutorial London.

Herbst, R. M. 1944. «Transamination reaction «Advance in Enzymolo. 4 : 75

Lerner, A. B. 1953. «The metabolism of Phenylalanine and Tyrosine Advances in Enzymol., 14 : 73.

Nester. E. W., C. E. Roberts N. N. Pearsall and B. J. Me Carthy. 1978. Holt. Rinehart and Winston. New York.

Oginsky.E. L. W. W. Umbreit, 1954 An introduction to bacterial physiology W. H. Freemann and Co. San Francisco.

Street, .H. E. 1949. Nitrogen metabolism of higher plants. Advances in Enzymolo., 9 : 391.

Virtanen, A. I. 1947.The biology and chemistry of nitrogen fixation by legume bacteria. Biol. Rev. 22 : 239.

Wilson, W. P. 1952. The compartive biochemistry of nitrogen fixation Advances in Enzymol. 13 : 345.

الفصل الخـــامس

التحولات الايضية للمواد الأخرى

أن طرق تحول الكربوايدرات والبروتينات السابق مناقشتها فى البابـــين السابقين يمكنها أن تمتد إلى غيرها من المواد . وهناك كثير من المواد قد تتحلل بطرق مختلفة إلا أنها قد تتضمن نفس المركبات الايضية الوسطية للكربوايدرات أو البروتينات . والفائدة الرئيسية التى تعود على الخــلايا نتيجة لحدوث مثــل هذه التحللات هى نفس الفائدة التى تتحلل من أجلها الكربوايدرات ، أى الحصول على الطاقة وإيجاد المواد اللازمة لعمليات البناء إلا أن الانزيمات التى تساعد على تحلل هذه المواد تختلف عن تلك الخاصـــة بتحليل البروتينات أو الكربوايدرات .

ويشمل هذا الفصل مناقشة التحولات الايضية لمجموعة متباينة من المواد هى : الدهون ، والمركبات الحلقية العطرية aromaticring structure compounds وكذلك تحولات الأحماض النووية .

١ ــ التحولات الايضية للدهون Metabolism of Fats

تحتوى خلايا البكتيريا على دهون وهى عبارة عن إسترات الجليسرول مع الأحماض الدهنية كما تحتوى أيضاً على شموع وهى عبارة عن الاسترات الكحولية الوحيدة لهذه الأحماض ((monoalcoholic esters)) ، كما أنها تحتوى أيضاً على دهون أكثر تعقيدا (وهى الدهون الفوسفاتية phospholipids)

ومن الأمثلة الواضحة فى البكتيريا التى تحتوى خلاياها على نسبة مرتفعة من الدهون تلك التابعة لجنس *Microbacterium* والذى يحتوى على صورا مميزة منها . والبكتيريات عموما تحتوى على نسبة معينة من الدهون بمحتوياتها الخلوية تتراوح بين (½ ــ٥٠٪) من وزنها الجاف .

وهذا والفطريات والخمائر يبدو أنها تحتوى على نسبة أكبر من الدهون تتراوح بين ١٠ — ٢٥٪ . وعموما فان نسبة الدهن بالخلايا الحية تختلف ، ، باختلاف الظروف البيئية .

وليس هناك أى شك فى أن بعض الدهون تتواجد فى الأغشية السيتوبلازمية وأن وجودها يساعد هذه الأغشية على أداء وظيفتها ، وتمثل البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* مثالا واضحاً فى هذه الحالة ، حيث يمكنها أكسدة الكبريت بعد إذابته فى محتوياتها من الدهون غير المشبعة التى تتواجد فى بسيتوبلازمها فى صورة فقاقيع globules .

وإذا ماتواجدت الدهون بالبيئة النامى عليها بعض الأنواع البكتيرية فان بعضا منها يستغل وتستهلك بهذه الخلايا ، وأول مايحدث لها هو تحللها بفعل الانزيم ليباز lipase الذى تفرزه الخلايا خارجيا والذى يمكنه أن يحول الدهون إلى جليسرول (يمكن استغلاله عن طريق انزيمات تحولات الكربوايدرات) ، وأحماض دهنية . وتختلف الأحماض الدهنية باختلاف طبيعة الدهون المحللة . ولكنها غالباً أحماض دهنية مشبعة ذات ١٤ — ١٨ ذرة من الكربون وعلى الأخص حمضى البالمتيك palmetic acid والاستياريك stearic acid .

وقد قام باركز وزملاؤه (١٩٤٦) بدراسة طريقة تجهيز حمض البيوتيريك بواسطة البكتيريا *Clostridium kluyveri* غير الهوائية اجبارا والتى يمكن عزلها من الطين . ووجد أن هذه البكتيريا لاتستعمل الجلوكوز بل تتطلب كحول الايثايل وحمض عضوى (ذو سلسلة قصيرة) مثل حمض الخليك لكى تنمو . وتحصل هذه البكتيريا على الطاقة اللازمة لها من تحويل هذه المواد واستعمالها فى تخليق أحماض دهنية أخرى ، وفى هذه الظروف يمكنها أن تكون حمض البيوتيريك ، وحمض الكابرويك caproic acid مع انطلاق الايدروجين .

وعند تعليم ذرة الكربون فى مجموعة الكربوكسيل لحمض الخليك المضاف

(ك يد$_٣$ — ك$_*$ اايد) فانه أمكن متابعة الكربون المشع فى جزيئات الأحماض الدهنية المتكونة مثل (حمض بيوتيريك ك*يد$_٣$ — ك° يد٢ — ك يد$_٢$ — ك اايد) و(حمض كابرويك ك يد$_٣$ — ك°يد$_٢$ — ك*يد — ك يد$_٢$ — ك اايد) وهذا يبين أن هذه الأحماض قد تكونت من حمض الخليك المضاف والمحتوى على الكربون المشع . وقد أمكن الحصول على مستخلصات من خلايا هذه البكتيريا يمكنها القيام بنفس التفاعلات فى غياب الخلايا الكاملة وفى وجود حمض الخليك وكحول الايثايل فى ظروف غير هوائية . وقد وجد أن كحول الايثايل يتأكسد أولا إلى اسيتالدهيد والأخير يتحول إلى فوسفات الاسيتايل مع أنطلاق ايدروجين وأن الأخير يستعمل فى إختزال فوسفات الاسيتايل وحمض الخليك مكونا حمض بيوتيريك .

وقبل مناقشة طرق تخليق الأحماض الدهنية أو هدمها يلزم أن نستعرض المرافق الانزيمى (ا) (Coenzyme A) والذى سبقت الاشارة إلى كيفية تكونه عند مناقشة التحولات الايضية للكربوايدرات وأن هذا المرافق الانزيمى يخدم كعامل انتقال لمجاميع الاسيتايل أو لأجزاء من الأحماض الدهنية من حمض دهنى إلى آخر . بمعنى أنه يمكن ملاحظة (مرافق أنزيمى ا) حاملا لمجموعة أسيتيل (acetyl -Co A) أو حاملا لمجموعة بيوتيريل (butyrl Co.A) أو حاملا لمجموعة أسيتواستيك (acetoacetic-Co.A) ، وهذه المواد تتفاعل بطرق مختلفة مؤدية إلى تكوين الأحماض الدهنية وبالتالى إلى تكوين الستيريودات steroids أو البيورينات أو البريميدينات . وتتلخص خطوات المرافق الانزيمى ا ذو مجموعة الاسيتيل (acetyl Co. A) (شكل ١٢٤) فيما يلى

(١) يتفاعل انزيم خاص مع مركب الادينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP)ليكون مركبا معقداً من الانزيم وحمض الادينيليك (enzyme ad-enylic complex). وينطلق نتيجة لذلك مجموعة فوسفات غير عضوية . (٢) يتفاعل هذا المركب المعقد مع المرافق الانزيمى فى صورته المختزلة (مرافق ا — كب يد)

(Co A - SH)ليكون حمض أدينيليك ومركبا معقدا من الانزيم والمرافق enzyme - Co. A. (٣) يتفاعل هذاالمركب المعقد الأخير مع حمض الخليك أو الأحماض الدهنية الأخرى ليتكون acetyl Co A ذو التركيب التالى (كيد٣ كا — كب — مرافق أنزيمى ا) وينطلق نتيجة لذلك الانزيم المسئول ، ليستعمل مرة أخرى . كل هذه التماعلات تكون عكسية حيث أن acetyl-Co A الذى يتكون نتيجة لتفاعلات أخرى يمكنه أن يستعمل لإنتاج وحدات من ATP.

(١) انزيم + ATP ← انزيم — ادينيليك ← adanylic + بيروفوسفات .

شكل ١٢٤ : طرق تخليق وهدم الأحماض الدهنية.

(٢) انزيم — حمض ادينيليك + (مرافق ا— كب يد) ←
انزيم — كب —)—(مرافق ا) + حمض ادينيليك
(٣) انزيم — كب — مرافق ا + كيد٣ك ا ا يد
← انزيم —ك يد٢ —ك ا — كب — مرافق ا

وبالمثل إذا أتحد (المرافق ا) مع المجاميع الكربوكسيلية للأحماض العضوية فانها تحمل مثل هذه الأحماض من نظام أنزيمي إلى آخر . وفى بعض الحالات يمكن (للمرافق ا) أن يقوم بوظيفة أكثر تعقيدا حيث أن المركب المعقد الناتج من أتحاد (المرافق ا) مع الحمض العضوى يقوم بنفسه أو فى حد ذاته بالتفاعل بمعنى أن كل من عمليات تخليق أو هدم الأحماض الدهنية تتم عن هذا الطريق (شكل ١٢٤) .

ويتبين من الدورة الأولى (بشكل ١٢٤) أن التفاعلات تبدأ بتكدس جزيئين من المرافق المحتوى على مجموعة اسيتيل (ecetylCo. A) ليتكون منها المركب (خليك — مرافق ا) ثم يختزل المركب الأخير ليكون مركباً آخر هو (البيتاهيدروكسى بيوتيرك — مرافق ا) وهذا يفقد جزىء ماء ثم يختزل مرة أخر ليتحول إلى (بيوتيريلك — مرافق ا) والنتيجة النهائية هو تكون حمض دهنى ذى أربعة ذرات كربون . وكما هو مبين بالدورة الثانية بشكل ١١٦ يمكن (للبوتيريل — مرافق ا) أن يتحد بجزىء آخر من (مرافق ا—اسيتيل) حيث يتكون مركب جديد هو (البيوتيريل — اسيتيل مرافق ا) + (مرافق ا) مختزل . والمركب الأول يمكنه أن يختزل ثم يفقد جزىء ماء ثم يختزل مرة ثانية ليكون حمض دهنى جديد يحتوى على ست ذرات كربون + (مارافق ا) من الواضح أن الحمض الدهنى الجديد نشأ نتيجة لتكدس مركبين أحدهما ذو أربع ذرات كربون وآخر ذو ذرتين (مرافق ا— اسيتيل) وبالمثل يمكن تكون حمض دهنى يحتوى على ثمانى ذرات كربونية من تكدس (٦+٢) وآخر يحتوى على عشر ذرات كربونية من تكدس (٨+٢) وهكذا يتكون حمض

حمض دهنى جديد يزيد فى محتوياته الكربونية عن طريق إضافة مجموعة اسيتيل إلى نهاية الحمض الدهنى الأصلى عند مجموعته الكربوكسيلية .

هذا وتحلل الأحماض الدهنية يبدو أنه يتبع نفس الطريق حيث يبدأ التحلل بتحويل الحمض الدهنى إلى صورته المتحدة مع (المرافقا) .

وقد كان يعتقد إلى عهد قريب أن سلاسل الأحماض الدهنية تتحلل تدريجيا بانفصال مجاميع اسيتيل (ذرتين من الكربون) مرة تلو الأخرى ولكن وجد أن هذا ليس صحيحا إذا ماأخذ فى الاعتبار الحقيقة التالية . إذا كان تحلل هذه الأحماض يحدث بانفصال ذرتين من الكربون فى كل مرة فانه عند تحلل حمض دهنى ذو سلسلة طويلة (١٨ ذرة كربون) ، يشترط أن نشاهد مجموعة من الأحماض الدهنية الناتجة عن مثل هذا التحلل يحتوى على مايلى من ذرات الكربون (٤ ، ٦ ، ٨ ، ١٠ ، ١٢ .. وهكذا) . ولكن الذى يحدث أننا نشاهد مجاميع اسيتيل + بقايا الحمض المتحلل المحتوية على ١٦ ذرة كربون ، وأحيانا نشاهد مركبات تحتوى على ٤ ذرات من الكربون (اسيتواسينات) وتفسر هذه الحقيقة بأن المواد الوسطية فى التحليل لاتظهر فى صورتها الحمضية الحرة ولكن فى صورتها المرتبطة بالمرافق الانزيمى ا .

وحيث أن كمية المرافق الانزيمى ا تكون محدودة فاننا سنجد فقط آثار من المركبات الوسطية على صورة أحماض حرة أثناء التحلل . وعموما يمكن القول بأن الحمض الدهنى يتحلل نتيجة لأكسدته أكسدة كاملة والتى تحدث لكل جزىء من جزيئاته واحدا تلو الآخر .

وهناك حقيقة أخرى يبدو أنها لم تدرس بعد وهى أن أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الصغيرة التى يتراوح عدد ذراتها من الكربون بين ٢ـــ ١٠ ذرة ، تختلف بطريقة ماعن أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة (١٣ ـــ ١٦ ذرة كربون) ، بالرغم من تشابه طرق تحللها . فمثلا فى

حالة البكتيريا التابعة لجنس (*Mycobacterium*) ، نجد أن وجود المضـــاد الحيوى ستربتومايسين يمنع أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة ولا يمنع أكسدة تلك الأحماض ذات السلاسل القصيرة ، وإلى الآن لم يعرف أوجه مثل هذا الاختلاف اللهم إلا إذا كان هناك أختلاف فى التركيب البنائى بكل من هذه المجاميع من الأحماض الدهنية .

٢ — التحولات الايضية للسترويدات stereoids والمواد المشابهة

لا زالت طرق تخليق أو هدم السترويدات بالبكتيريا غير معروفة ولكن من المعلومات القليلة المتوفرة حاليا يمكن القول أنها تشبه الطرق الخاصــــة بتخليقها فى الأنسجة الحيوانية ، والتى لازال يعرف القليل عنها هى الأخرى. وفى الدراسات التى تمت على الأنسجة الحيوانية باستعمال النظائر المشعة نفترض أن الاستات acetates والاسيتواسيتات acetoacetates والايزوفاليرات isovalerates تظهر فى الكوليسترول cholestrol المتكون ، وأن كلا ذرتى الكربون فى حمض الخليك تظهر فى الكوليسترول الناتج وهذا يدعونا إلى الاعتقاد أن هذه المادة تخلق كلية من حمض الخليك . فمجموعة الميثايل المتواجدة بحمض الخليك تظهر أيضاً فى الذرات الكربونية رقم ١٧ ، ١٨ ، ١٩ ، ٢٦ من جزىء الكوليسترول ، والمجموعة الكربوكسيلية من حمض الخليك وجد أنها تظهر فى الكوليسترول فى الذرتين رقم ١٠ ، ٢٥ .

وفيما يختص بالمركب ايرجوستيرول ergosterol وهو الاستيرويد الذى يتكون بالفطريات وجد أنه ينشأ أيضاً من الاسيتات إلا أن خطوات تخليقه منها مازالت غير معروفة . وعموما فان البكتيريا وجدت خالية تماما من مثل هذه المركبات الاسترويدية steroids

٣ — التحولات الايضية للمركيات الحلقية العطرية

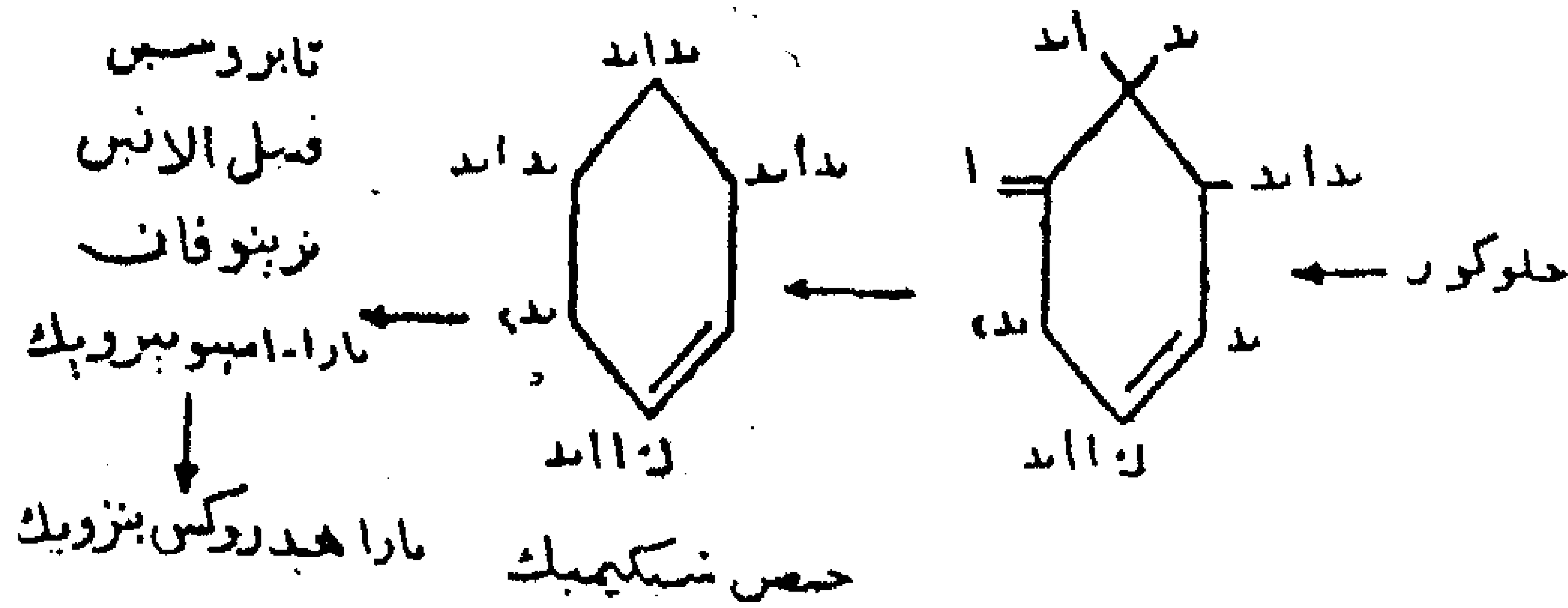
Metabolism of Aromatic rings

يمكن لبعض البكتيريات مهاجمة الحلقات البنزينية Benzene rings

والطريقان المعروفان فى هدم هذه المواد يلتقيان عند تكوين حمض بيتا كيتو اديبيك (B - ketoadipic) . وكلا من الطريقين يتضمن تحويل المركب الحلقى إلى حلقة تحتوى على مجموعتين هيدروكسيليتين ، ثم تنقسم الحلقة فى المنطقة الواقعة بين هاتين المجموعتين مكونة سلسلة مستقيمة ، ويعقب ذلك أنكسار للسلسلة المستقيمة إلى مركبات وسطية أخرى .

وبعض الأحماض الأمينية مثل التايروسين ، والفنيل الآنين ، والتربتوفان والهستدين ، والبرولين والتى تحتوى على تركيب حلقى ، لها سرعتها التحليلية الخاصة كما سبق أن بينا .

هذا وتخليق مثل هذه المركبات الحلقية العطرية يتم فى بعض الحالات طبقاً للطريق التالى :



وفى البعض الآخر من الحالات لازالت طرق التخليق مجهولة .

٤ــ التحولات الايضية للاحماض النووية والبيورينات والبريميدينات

Metabolism of nucleic acids purines and pyrimidines

بالرغم من غياب التركيب المحدد للنواه بالخلايا البكتيرية إلا أنها تحتوى على مادتها الأساسية . ومن المعروف منذ زمن طويل أن الأنوية تكون غنية بالمواد الحمضية ويتبين أيضاً أن مثل هذه المواد قد تتواجد أيضاً فى السيتوبلازم وقد حاول علماء الكيمياء الحيوية وعلماء البيولوجى الحصول على هذه الأحماض وتمكنوا من الحصول علي مواد أطلق عليها اسم الأحماض النووية . وبعـــد

دراسات استمرت فترة طويلة أمكن التعرف على هذه الأحماض من ناحية تركيبها وطبيعتها ووظائفها للخلايا .

وعن هذا الطريق أمكن التعرف على مجموعتين من الأحماض النووية ، (١) الأحماض النووية المحتوية على سكر الريبوز RNA وهذه تعرف أحيانا باسم أحماض الخميرة النووية yeast nucleic acid أو الأحماض الأمينية السيتوبلازمية cytoplasmic nucleic acids (٢) الأحماض النووية المحتوية على سكر الدايوكسى ريبوز deoxyribose nucleic acids DNA وتعرف أحيانا بأحماض الأنوية الحيوانية أو أحماض الثايمس النووية thymus nucleic acid.

وتتواجد هذه الأحماض النووية بالخلايا مرتبطة مع البروتينات — التى تختلف فى طبيعتها — ونتيجة لهذا الارتباط تتكون المركبات التى تعرف ، بالنيكلوبروتينات Nucleoproteins وعندما تتحلل الأحماض النووية كلية فان كل مجموعة منها تعطى عدداً قليلا من المكونات كما هو موضح (بجدول رقم ٢١) . ويلاحظ من الجدول أن نسب المكونات تكون (٤ وحدات سكر خماسى : ٢ بيورينات : ٢ بريميدنات : ٤ فوسفات) ، وبالرغم من أن هذه النسب لا تختلف كثيرا عن الأحماض النووية إلا أن نوع البيورينات أو البريميدينات لا يكون متطابقاً باستمرار ، فبعض الأحماض النووية قد تحتوى على نسبة من الادنين أكبر من الجوانين والبعض الآخر قد يحتوى على كمية من السيتوسين أكثر من البريميدينات الأخرى .

جدول رقم ٢١ : مكونات الأحماض النووية ونسبتها .

المكونات	عدد الجزيئات في الوحدة من الحمض النووي	الأحماض النووية المحتوية على ريبوز RNA	الأحماض النووية المحتوية على دي أوكسي ريبوز DNA
سكر خماسي	٤	ريبوز ك يد ا — ك يد أيد - ك يد أيد - ك يد أيد - ك يد٢ أيد	دي وكسي ريبوز ك يد ا - ك يد٢ - ك يد أيد - - ك يد أيد - ك يد٢ أيد
بيورينات Purines	١ ١	Adenine أدينين ن = ك — ن يد٢ يد - ك ك — ن ن — ك — ن ك يد يد Guanine جوانين ن = ك - أيد ن يد٢ - ك ك — ن ن — ك — ن ك يد يد	أدينين جوانين
بيريميدينات Pyrimidines	١ ١ —	Uracil يوراسيل يد - ن - ك = ا ا = ك ك يد يد ن — ك يد Cytosine سيتوسين يد ن — ك — ن يد٢ ا = ك ن — يد يد ن — ك — يد ————	———— سيتوسين Cytosine Thymine - ثايمين يد - ن - ك = ا ا = ك ك — ك يد٣ يد ن — ك يد
فوسفات	٤	+	+

ومن ذلك نرى أن تركيب الأحماض النووية يختلف فى تفاصيله من كائن إلى آخر إلا أنه يكون ثابتا باستمرار للكائن البكتيرى الواحد .

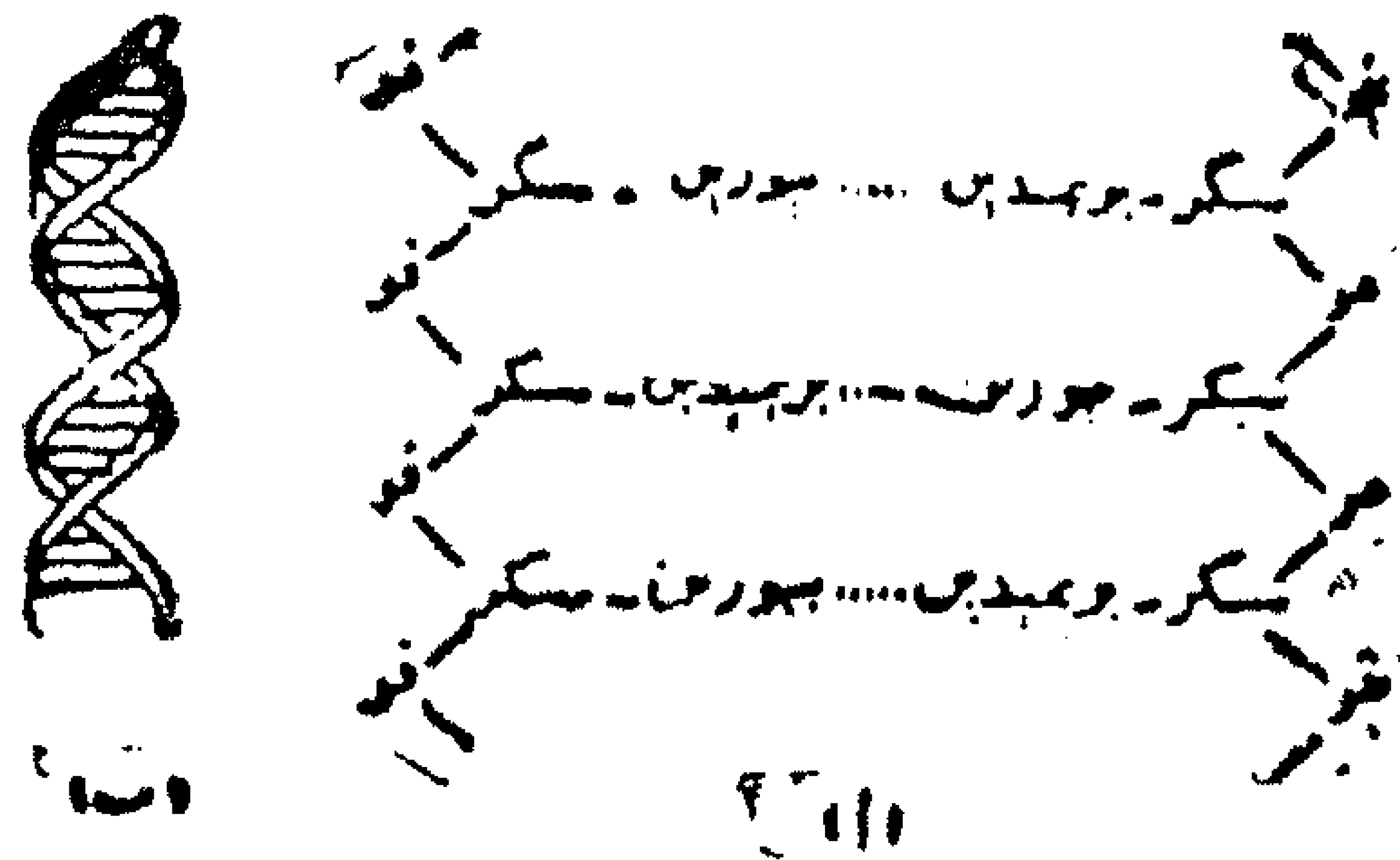
ومن الناحية الكيماوية نجد أن تركيب DNA يكون أكثر أنتظاما من RNA

فى حالة DNA نجد أن كل وحدة ادنين يقابلها وحدة من الثايمين و كل وحدة من الجوانين يقابلها وحدة من السيتوسين (أو ميثايل سيتوسين فى حالة الأحماض النووية لبعض النباتات) . و كمية الادنين الحقيقية تختلف قليلا من نوع بكتيرى إلى آخر إلا أنه باستمرار تتواجد وحدة ثايمين لكل وحدة ادنين .

جدول رقم ٢٢ : تركيب DNA من مصادر مختلفة .

مصدر DNA	نسبة الادنين إلى الجوانين	نسبة الادنين إلى الثايمين	نسبة الادنين إلى السيتوسين
الانسان	١,٥٦	١	١
الخميرة	١,٦٧	١	١
E coli	١,٠٥	١	١
Sarcina marcesens	٠,٧	١	١
Myco. tuberulosis	٠,٤	١	١

يتضح من البيانات الواردة (بجدول رقم ٢٢) أنه لبناء جزىء DNA يشترط وحدة ثايمين لكل وحدة أدنين ، ووحدة سيتوسين لكل وحدة جوانين ويبين (شكل ١٢٥) رسم تخطيطى لما تعارف عليه العلماء فيما يختص بتركيب جزيئات الـ DNA



شكل ١٢٥ : النموذج المقترح لتركيب جزىء DNA

(ا) طريقة ارتباط البيورينات والبريميدنات بالفوسفات والسكر الخماسى .

(ب) سلسلتان متوازيتان ملتفتان بطريقة حلزونية حول محور خاص مشترك .

ويفترض هذا النموذج (شكل ١٢٥ ب) أن جزىءDNAيكون مبنيا من سلاسل متوازية وملتفة على بعضها بشكل حلزون . وهذه السلاسل تتكون من سكريات مفسفرة بحيث تكون البيورينات والبريميدينات بارزة إلى الخارج من كل سلسلة ، فمثلا إذا كانت القاعدة عبارة عن ادينين فى أحد السلاسل فإن القاعدة فى المكان المكمل والمقابل لها من السلسلة الأخرى تكون عبارة عن ثايمين . وإذا كانت القاعدة فى أحد السلاسل عبارة عن جوانين تكون القاعدة فى السلسلة الأخرى المقابلة هى سيتوسين وهكذا . والسلسلتان المتوازيتان تلتفان عادة حول محور موحد وخاص . وحيث أن كل سلسلة تعتبر مكملة للأخرى فإن ذلك يمكنه أن يوضح كيفية تكرار الجزىء . وقد يمكن تخيل إمكان أنفصال السلسلتين عن بعضها ، فى هذه الحالة يعمل كل منها على بليق السلسلة الأخرى المرافقة له وهذا يعنى مضاعفة وتكرار التركيب الأصلى بشرط أن يدخل نصف الجزىء القديم فى تركيب الجزىء الجديد المتكون .

وفيما يختص بتركيب RNAفانه ليس على مثل هذه الدرجة من التنظيم ولايعرف الكثير عن تركيبه بدرجه تجعله مختلفا عن تركيبDNA

هذا والبيورينات والبريميدينات والسكريات الخماسية يمكنها أن تتواجد أيضاً فى مركبات أخرى بعضا منها يكون قريب الشبه بالأحماض النووية . فعندما ترتبط البيورينات أو البريميدينات مع السكريات فإن المركبات الناتجة تعرف باسم النيوكليوسيدات nucleosides مثل

الادينين — ريبوز = ادينين نيوكليوسيد adenine nucleocide ويعرف أيضاً بالادينوسين adenosine nucleoside أو بالإدينين دايوكسى ريبوز أو بالادينين دايوكسى ريبوسيد adenine deoxyriboside . أما إذا أتحدت النيوكليوسيدرات بالفوسفات فانها تعرف حينئذ باسم النيوكليوتيدات nucleotides مثل :

ادينين — ريبوز — فوسفات = ادينين كليوتايد = ادينين ريبوتايد = حمض ادينيليك .

وكذلك الادينين — دايوكسى ريبوز فوسفات = أدينين دايوكسى ريبوتايد .

والنيكليوتيدات تعتبر حالات خاصة . فقد تشتق من الأحماض النووية التى تحتوى على فوسفات مرتبطة الذرات رقم ٢ أو الذرة ٣ من السكر الخماسى (ريبوز) . كما أن النيكليوتيدات المحتوية على أدينين يمكنها أن تشتق أيضاً من بعض المرافقات الانزيمية مثل [DPN أو TPN أو (flavine adenine_FAD dinucleotide)] أو (ADP أو ATP . . . . الخ) . والتى تتواجد بها مجاميع الفوسفات على الذرة رقم ٥ من السكر الخماسى .

والبيورينات أو البريميدينات وكذلك النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات المتكونه منها ، يمكنها أن تدخل فى تفاعلات أيضية مختلفة .

ويعرف الآن الطريق الذى يتم به تخليق RNA ، DNA . وقد أمكن التحصل على المعلومات الخاصة بذلك من الدراسات التى تمت على الأنسجة الحيوانية باستعمال النيتروجين المعلم (ن١٥) والتى أظهرت أن معدل تخليق وهدم (rate of turnover) الخاص بالـDNA يكون أبطأ من ذلك الخاص بالـ RNA . ولكن عند استعمال الفوسفور المعلم (فو٣٢) كان معدل تخليق وهدم DNA أسرع من ذلك الخاص بالـ RNA وهذا يدل على أن البيورينات والبريميدينات يمكنها أن تدخل وتخرج من تركيب DNA دون حدوث أى تغيير للفوسفات . كما وجد أن كمية RNA بالأنوية تكون قليلة جدا وأن سرعة تخليقه وهدمه داخل النواة تكون أسرع منها فى حالة وجودها بالسيتوبلازم :

وقد أمكن أيضاً التعرف على أن بعض البيورينات الحرة مثل adenine تستعمل فى تخليق RNA فى الخلايا الحيوانية إلا أن مركباتها من النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات لاتشترك فى تكون RNA ، ومن الناحية الأخرى وجد أن

البريميدينات لاتدخل فى تركيب RNA ولكن مركباتها وبخاصة النيوكليوسيدات هى التى تستعمل فى هذا الصدد . من ذلك نرى أن طرق تخليق RNA تختلف بدرجة كبيرة عن الطرق الخاصة بهدمها .

معظم الخلايا البكتيرية ، يمكنها القيام بتخليق كلا النوعين من الأحماض النووية ولكن بعض البكتيريات تتطلب بعض البيورينات أو البريميدينات الخاصة لكى تقوم بالنمو كما أن هناك بعض الأنواع التى تتطلب وجود النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات كشرط أساسى لكى تنمو .

واحتياج بعض البكتيريا إلى عوامل النمو (فيتامين) يبين أهمية استعمال هذه المواد فى صورتها المجهزة وأن هذا يفترض أن هذه المواد المجهزة تعتبر مكونات للأحماض النووية كما سبق أن بينا . وهذا ليس صحيحا فى كل الحالات حيث أنه علاوة على وجود الأحماض النووية فان الخلايا البكتيرية قد تحتوى على نيوكليوتيدات يعمل كمرافقات أنزيمية مثل ATP ، DPN .. إلخ ، وأحيانا قد تحتاج الخلايا إلى إضافة بعض النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات إلى البيئة لكى تتمكن الخلايا من تخليق مثل هذه المرافقات الأنزيمية .

وعمليات هدم الأحماض النووية فى الخلايا البكتيرية يبدو أنها تتشابه مع تلك التى تحدث بالخلايا الحيوانية . والتى تتضمن فى حالة RNA أولا انفصال الأحماض النووية من البروتينات النووية نتيجة لحدوث عملية depolymerization وهذا يعنى انكسار الجزىء المكون من الأحماض النووية وتكوين عديد النيوكليوتيدات polynuclotides الذائبة والقابلة للانتشار ومايتبقى من البروتين النووى يكون عبارة عن المحور (core) غير القابل الذوبان والمقاوم للتحلل الأنزيمى ويكون محتويا على نسبة أكبر من الأدينين وعديد النيوكلوتيدات الذاتية والقابلة للانتشار وهذه يمكنها أن تتحول أنزيميا إلى نيوكليوتيدات فردية . وهذه الأخيرة تشبه كثيرا النيوكليوتيدات المشتقة من تحلل المرافقات

الأنزيمية إلا أنها تحتوى على مجاميع الفوسفات بالذرة رقم ٢ أو رقم ٣ من جزىء سكر الريبوز كما سبق أن ذكرنا ، وإذا انفصلت المجاميع الفوسفاتية عن هذه النيوكليوتيدات تتكون النيوكليوسيدات المقابلة . ويمكن هنا أن نقرر أن النيوكليوسيدات المشتقة من الأحماض النووية تشابه تماما تلك التى تشتق من المرافقات الأنزيمية .

والتحولات الايضية للمركبات (nucleosides) الناتجة من التحلل تحدث عن طريق أربع تفاعلات .

(١) أهم تفاعل يمكن أن يحدث هو حدوث تحلل يعرف باسم (phosphorolytic cleavage) ليكون بيورينات وبريميدينات حرة مع انفصال ريبوز — ١— فوسفات

(٢) حدوث تحلل مائى (لايقتضى وجود فوسفات) ، وقد أمكن ملاحظة مثل هذا التفاعل فى البكتيريا *Lactobacillus pentosus* ، وبعض الخمائر ومن مميزات هذا التفاعل أنه غير عكسى بمعنى أن البيورينات الناتجة لاتتحد بالريبوز مرة ثانية لتكون بيورين — ريبوسيد .

(٣) حدوث عملية إزالة المجاميع الأمينية (deamination) أو بمعنى آخر حدوث عملية تأكسد للبيورينات والبريميدينات قبل تحلل النيوكليوسيد .

(٤) هذا النوع من التفاعل يقتضى حدوث تبادل لمجاميع البيورينات أو البريميدينات فى جزىء النيوكليوسيد بدون حدوث تحلل مائى أو تحلل فوسفاتى . وإلى الآن لم يشاهد مثل هذا النوع من التفاعلات فى الريبوسيدات بل لوحظت فى حالة الدايوكسى ريبوسيدات .

ويبدو أنه فى حالة RNA فان تحلل النيوكليوسيدات يتم عن طريق التفاعل الأول .

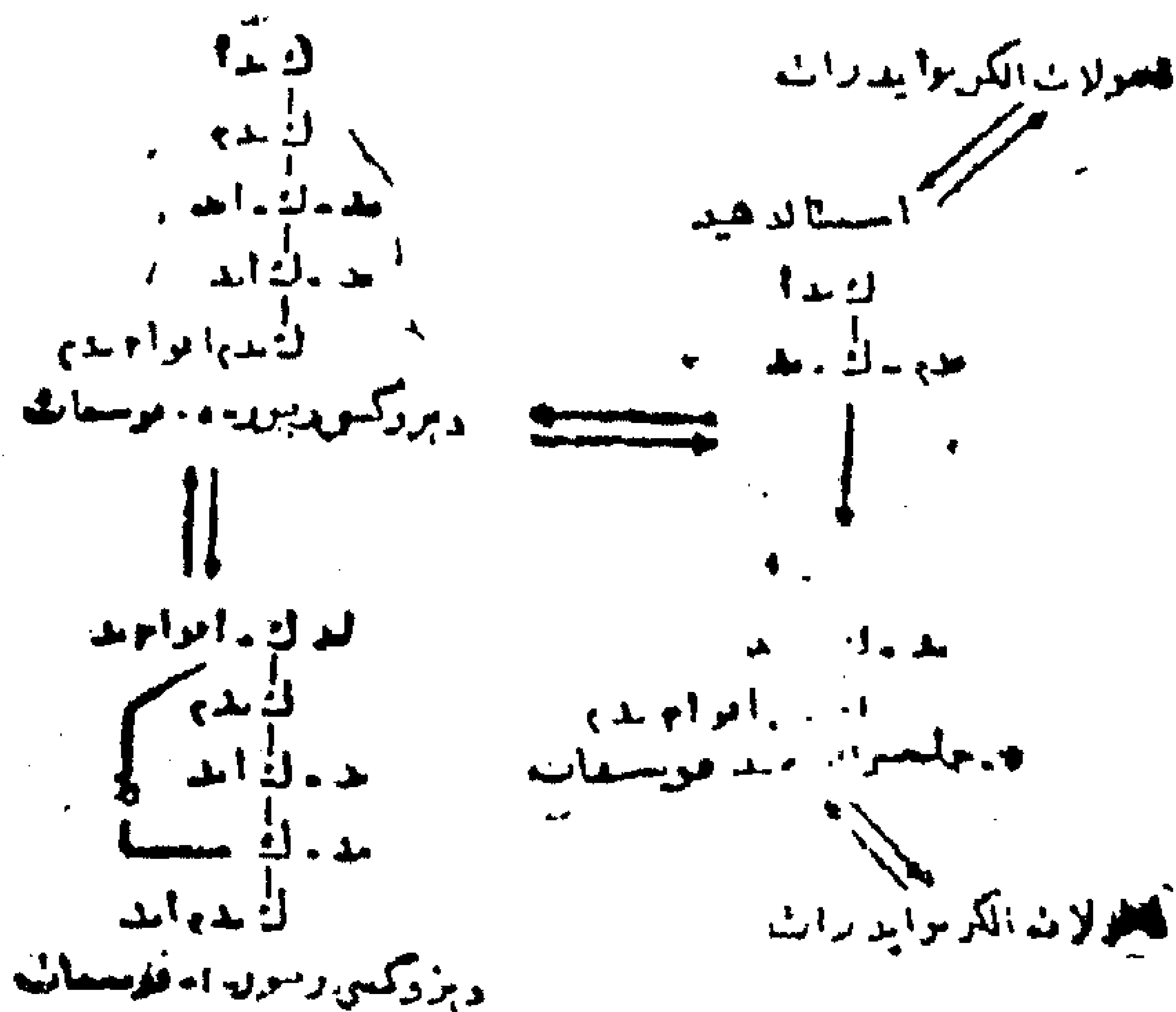
والتفاعلات الأيضية الخاصة بتحليل DNA يبدو أنها تشبه تلك الخاصة

بالRNAإلا أنها تكون على درجة أكبر من البساطة . وأن تحلل الدايوكسى ريبونيوكليوسيدات يتم عن طريق تبادل البيورينات والبريميدينات .

وقد تم فيما سبق متابعة طرق تخليق كل من DNAوRNA إلى حد تكون البيورينات والبريميدينات وكذلك السكر الخماسى المفسفر (ريبوز فوسفات) يبقى الآن أن نعرف كيفية تخليق أو هدم هذه المواد الأساسية .

ففيما يختص بطرق تخليق السكر الخماسى المفسفر (ريبوز — ٥—فوسفات) فقد سبق ذكر ذلك عند مناقشتنا للتحولات الأيضية للكربوايدرات وفى حالة السكر الخماسى دايوكسى ريبوز فانه يتكون نتيجة لتكدس مركب يحتوى مركب يحتوى على ثلاث ذرات كربون مع آخر يحتوى على ذرتين من الكربون والخطوط العريضة لعملية تخليق هذا السكر مبينة (بشكل ١٢٦) .

هذا والريبوز — ٥ — فوسفات أو الريبوز — ١ — فوسفات يمكنه أن يتحلل ليكون مركب ذو ذرتين من الكربون (اسيتايل نشط) ومركب آخر ذو ثلاث ذرات كربونية . وكلاهما من المركبات الخاصة بالتحولات الايضية



للكربوايدرات . وليس هناك شك فى أن الريبوز أو الدايوكسى ريبوز — ٥ — فوسفات يمكنه أيضاً أن يخلق بالطريق العكسى لتحلله والسابق الاشارة إليـه فمن المعروف أنه يمكن للمركبات الثلاثية للكربون المفسفرة triosephosphate أن تتحد بالمركب glycol aldhyde عن طريق انزيم aldolase لتعطى سكر خماسى مفسفر .

والسكر الخماسى (دايوكسى ريبوز — ٥ — فوسفات) يخلق بالخلايـا بنفس الطريقة (شكل ١٢٦) إلا أن الانزيم المختص يختلف عن أنزيم الالدولاز aldolase.

وقد تم التعرف على كيفية تحلل البيورينات بالاستعانة بالكائنات الحيـة الدقيقة التى يمكنها تحليل كميات كبيرة من هذه المركبات . والبكتيريات العادية يستعمل عادة كمية صغيرة من نواتج تحلل الأحماض النووية لذلك فان لها طرقا خاصة تختلف عن الكائنات الأخرى التى يمكنها استهلاك كمية كبيرة من هذه المواد .

وعندما تتحلل البيورينات بفعل الكائنات الحية يكون (ك ا $_{٢}$) ، وامونيا وحمض خليك وحمض لاكتيك كنواتج تحللية . كما أنه لم يسهل تتبع المركبات الوسطية فى مثل هذه التفاعلات ، إلا أنه قد وجد فى حالة البكتيريا المحللة للبيورينات Micrococci ، أن ناتج تحلل البيورينات يعتبر كمواد وسطية لتخليق البريميدينات فى خلايا هذه البكتيريا .

وباستعمال الأنسجة الحيوانية وجد أن تحلل البيورينات تتبع مايلى من خطوات والمبينة بشكل (١٢٧) .

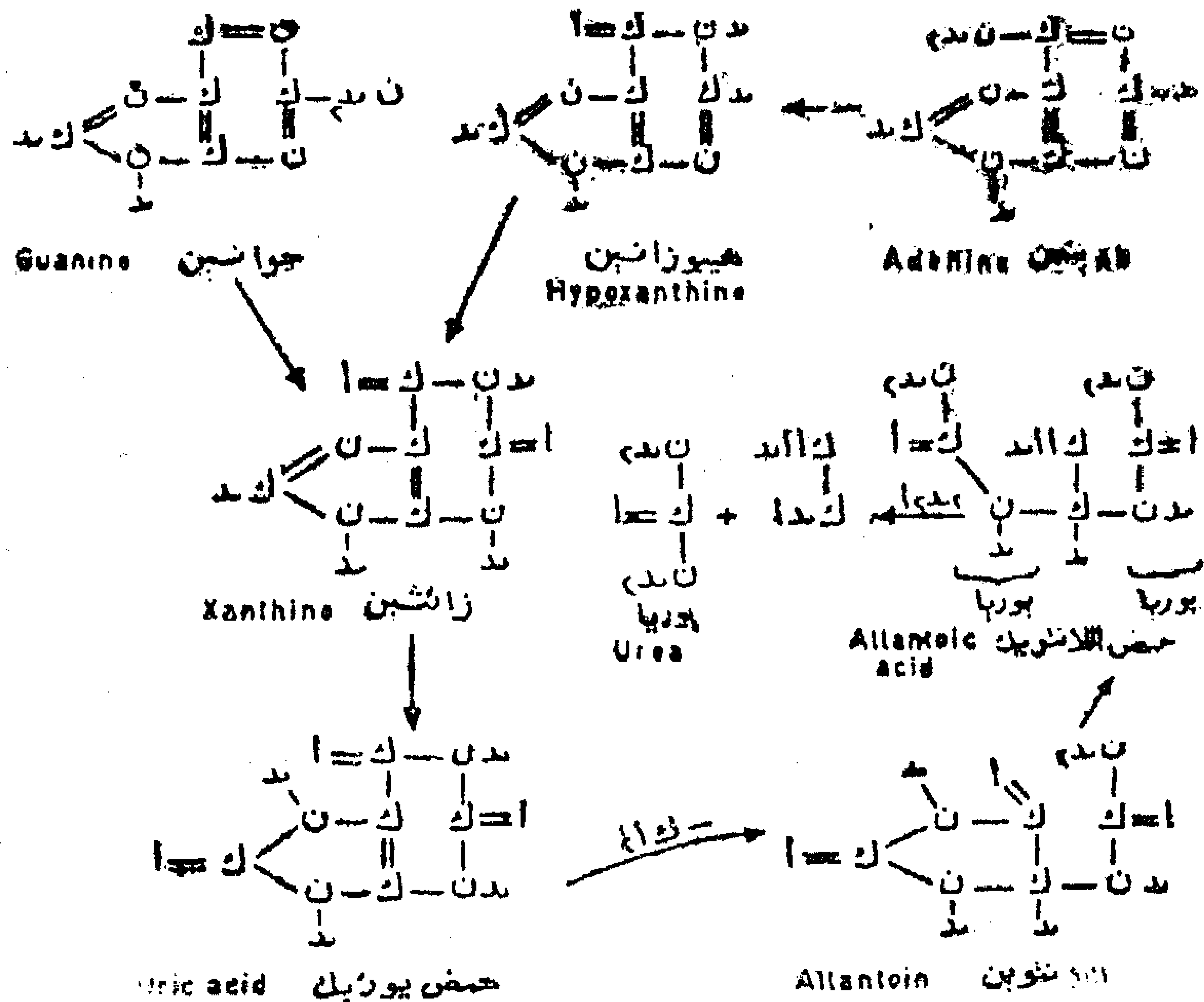
ادنين ← هيبوزانثين hypoxanthine ← زانثين xanthine ←
حمض يوريك ← allantoin ← allantioc acid ← يوريا .

وقد أمكن مشاهدة خطوات تحلل الجوانين إلى زانثين وكذلك الادنين

إلى هيبوزانثين فى البكتيريات . ولكن تختلف البكتيريا عن الخلايا الحيوانية فى أن الطرق التى تحول بها الهيبوزانثين إلى زانثين لازالت غير معـروفة .

إلا أن طرق تحلل البر يميدينات نفسها لازالت غير معروفة على وجه التحديد فى كل من الخلايا البكتيرية أو الأنسجة الحيوانية .

ويبدو أن مصدر تكون البيورينات والبريميدينات بالخلايا لاتحدث بطريق عكسى لتحللها . فقد وجد أن البيورينات تتكون من الأمونيا ، وثانى أكسيد الكربون ، والجليسين ، وحمض الفورميك . ومثل هذه النتائج قد تم الحصول عليها بالاستعانة بالأنسجة الحيوانية . وقد وجد أن المركب (٤ — امينوبنز يميدازول ٥ — كربوكسامايد 4- aminobenzimidazole 5-carboxamide) يتكون كمركب وسطى ، كما وجد أيضاً أن لحمض الفوليك folic aeld دوراً ملحوظا فى هذه العملية . وقد لوحظ تكدس



شكل ١٢٧ : خطوات تحلل البيورينات .

مركب كاربوكساميد carboxamide فى مزارع البكتريا *E. coli* التى يتوقف نموها نتيجة لوجود مركبات السلفوناميد بالبيئة ، مما يدل على أن تخليق البيورينات قد يتم تبعا لهذا الطريق .

وفيما يختص بتخليق البريميدينات بالخلايا الحيوانية وخلايا البكتريا فقد وجد أنها تتخلق من حمض الأوروتيك Orotic acid الذى لم يعرف إلى الآن المصدر الذى يتكون منه. وقد وجد أن كثيرا من بكتريا حمض اللاكتيك تتطلب إضافة حمض الأوروتيك إلى بيئاتها لكى تنمو ، وأمكن ملاحظة اندماج هذا الحمض بجزيئات البريميدينات .

مما سبق يتضح أنه لازال الكثير من طرق تخليق أو هدم الأحماض النووية غير معروف على وجه التحديد ، كما أن المعلومات الحالية عن الكيفية التى تتحد بها النيوكليوتيدات لتكون الأحماض النووية لازالت محدودة وقاصرة .

وبغض النظر عن طرق تخليق أو هدم الأحماض النووية إلا أنها ذات أهمية بيولوجية كبيرة .

فالـDNA هو المادة الهامة التى تتكون العوامل الوراثية (genes) كما أن مادة التحول transforming substance فى خلايا البكتريا تحتوى أيضاً على DNA . فبالرغم من أن DNA يتكون من وحدات محدودة ومعروفة إلا أنها تكون مرتبة بطرق مختلفة تؤدى إلى تكوين عدة آلاف من الصور المختلفة منه . وهذه الصور المختلفة من DNA لا يمكن تمييزها بالطرق الكيماوية المعروفة حاليا ولكن ما يمكن أن يقال عنها أنها تختلف فى نسب البيورينات والبريميدينات المكونة لها . وأكثر من ذلك أهمية أن DNA قد يتحد بالبروتينات المختلفة وهذا يؤدى إلى زيادة قدرته التخصصية . فاذا كانت هذه البروتينات هى المكونات الأساسية للجينات فيمكننا إذن أن نتعرف بطريقة تخمينية على وظيفة ودرجة تخصص هذه الجينات .

حمض فورميك
حمض خليك
حمض لاكتيك
حمض ماليك
حمض فوماريك
حمض سكسنيك
حمض سيتريك
حمض سز أكونيتيك
حمض أوكسال سكسنيك
حمض الفاكيتوجلوتاريك
حمض أوكسالوسيتيك
حمض أيزوستريك
دورة حمض الستريك
كحول ايثايل
استالدهيد
استيل ميثيل كاربينول
بيوتيلين جليكول
حمض خليك
حمض خليك
أسيتون
حمض أسيتوخليك
حمض بيتاهيدروكسي بيوتيريك
حمض بيوتريك
كحول بيوتانول
كحول أيزوبروبايل

كما يمكن التخيل أن تخصص الجينات يعتمد كثيرا على طبيعة سطوحها بطريق مشابه لفعل البروتين الانزيمى . فاذا تصورنا أن الكروموسوم يحتوى على عدة بروتينات غير فعالة فى حد ذاتها ولكنها ذات قدرة على إدمصاص جزيئات DNA بطريقة أو بأخرى بدرجة تضفى عليه الصفة التخصصية . إذن فعلى سطح هذا الحمض النووى المدمص يتم التفاعل الذى يتحكم فيه الجين المسئول . وبمجرد حدوث ذلك فى بادىء الأمر (initial trigger) فانه يتكون بالسيتوبلازم جزيئات مشابهة من البروتين والحمض النووى المدمص عليه وتستمر هذه فى القيام بالتفاعل المعين لفترة من الزمن حتى ولو حدث واختل تركيب هذه الجزيئات على الكروموسوم بداخل النــواه .

وقد يبدو هذا الاحتمال أو التخمين ضعيفاً ولكنه أحد الطرق التى يمكن بها تفسير فعل الجينات التخصصى . هذا ويجب أن لايخفى علينا دور RNA فى تكوين جزيئات البروتين الانزيمى . وأن تكون هذا الـ RNA يكون محكوما بالــDNA الخلوى .

هذا وحيث أن الجينات والانزيمات قد تتشابه من حيث طريقة فعلهـا إلا أن هناك بعض الاختلافات بينهما يجب أن نضعها موضع الاعتبار وهى :

١ — الجينات يمكنها أن تتكاثر (أو تتزايد) تلقائيا self duplicating فى حين أن هذا ليس من صفات الانزيمات .

٢ — أن الجينات تتحكم فى عملية تكوين وليس فى معدل نشاط الانزيمات وهذا التحكم قد يكون غير مباشر . بمعنى أن النشاط الانزيمى لايتأثر فقط عند غياب البروتين الانزيمى نتيجة لعدم وجود الجين المسئول بل قد يتأثر أيضاً نتيجة لوجود الجنين فى حالة متغيرة عن حالته الطبيعية .

المراجع

Breusch, F L 1948 The biochemisty of fatty acid catablolism Advances in Enzymol 8 . 343.

Bıeusch F.L 1952 «Carbohydrate f fat conversions» in J.B. Summer and K Myrback (ed.) The enzymes vol. II. Academic Press, N.Y. 1952.

Kleinzeller. A. 1948. «Synthesis of lipids» Advances in Enzymol. 8;299.

Lipmann. F. 1953. «On chemistry and function of Coenzyme A.». Bact. Rev. 17 ; 1.

Lampen. J.O. 1952. «Metabolism of nucleic acid components in bacteria.» Bact. Rev.. 16 : 211.

Lara. F.J.S. 1952. «On decomposition of pyrimidines by bacteria» J. Bacteriol.. 64 ; 271 - 279.

Racker. E. 1951. «Enzymatic synthesis of desoxypentose phosphate». Nature. 167 . 408.

Schlenk, F. 1949. «Chemistry and enzymology of nucleic acids.». Advances in Enzymol. 9 ; 455.

Wang, T.P. and J.O. Lampen. 1952. «Metablolism of purimidines by a soil bacterium». J. Biol. Chem., 194 : 775 - 785.

Whiteley, H.R. 1952. The fermentation of purines by *Micrococcus aerogenes*». J. Bactoeriol., 63 : 163.

الباب السادس

التعرف على البكتيريات وتقسيمها

يشمل هذا الباب ثلاثة فصول ، الأول خاص باستكمال بعض الدراسات الهامة فى أغراض التعرف والتقسيم والثانى يشمل وصفا مختصر الارتب البكتيرية وعائلاتها وأجناسها مبينا عدد الأنواع الخاصة بكل جنس ووصفا مختصرا مصورا للانواع ذات الأهمية الاقتصادية طبقا لتقسيم Bergey ١٩٧٤ للملكة الميكروبية .

وقد تضمن الفصل الثالث من هذا الباب دراسة مختصرة للمجموعة من الكائنات التى تعرف بالفيروسات والتى ظلت مدرجة بصف البكتيريات فترة طويلة إلى أن فصلت عنها عام ١٩٥٧ وأدرجت فى مجموعة قائمة بذاتها وحاليا مازال الموضع التقسيمى لهذه الكائنات غير متعرف عليه وذلك طبقا للطبقة الأخيرة من مرجع Bergey

الفصـــل الأول

التعرف على البكتيريات

Characterization of Bacteria

يشترط قبل التعرف على أى كائن بكتيرى يتم عزله حديثا القيام بعدة اختبارات للتأكد من صفاته المختلفة وليسهل التفرقة بينه وبين الكائنات الأخرى التابعة أو غير التابعة لمجموعته التقسيمية والتى قد تكون متشابهةمعه فى كثير من الخصائص أو قد تختلف عنه فى بعض آخر منها . بعض هذهالصفات قد نوقشت فيما سبق من أبواب وفصول هذا الكتاب . ومن ضمنها دراسة الصفات المورفولوجية والتركيب الداخلى للخلايا . والصفات المزرعية المختلفة ، والخصائص الفسيولوجية والبيئة ، ودرجة النشاط الأيضى والبيوكيمائى ، والقدرة على إحداث الأمراض (للنباتات أو الحيوانات) الا أن هناك مجموعة من الاختبارات يقصد بهاالتعرف على التركيب الانتيجينى Antigenic sturucture لخلايا البكتيريا المعزولة للتأكد من وضعها التقسيمى وللتعرف على الطراز أو السلالات المختلفة بداخل النوع الواحد منها ، وتعرف هذه الاختبارات بالاختبارات السيرولوجية Serological tests ، وكذلك الاتجاه الجزيئى والوراثى فى التقسيم وهذه لم تناقش بالقدز الكافى فيما سبق من محتويات هذا الكتاب ، ولذلك فاننا نجد أن المجال هنا قد يتسع لمناقشتها بشىء من التفصيل .

وبعد القيام بكل هذه الدراسات وتحديد صفات الكائن المعزول والمجهول فان الباحث يلجأ إلى استعمال جداول او مفاتيح التعرف identifcation Keys لمقارنة صفات الكائن المجهول والمعزول حديثا مع صفات الكائنات المدرجة بجداول التعرف هذه . ويحتوى مرجع بيرجى الخاص بتقسيم البكتيريات Bergey's manual of Determinative Bacteriology عـدة جداول أو مفاتيح تبدأ بالرتب البكتيرية حتى تصل إلى الأنواع . ومن ضمن هذه الجداول او المفاتيح تلك المعروفة باسم جدول سكيرمان Skerman's Key وعنـد استعمال هذه الجداول يشترط التعرف أولاعلى الرتبة التى ينتمى إليها الكائن

المجهول ثم العائلة ثم الجنس حتى تصل إلى النوع . وقد قامت عدة اعتراضات وانتقادات على استعمال مثل هذه الجداول بالرغم من الافتراض بانها قد نظمت على أساس العلاقات الطبيعية بين المجاميع البكتيرية المختلفة . فالكثير من علماء البكتيريولوجيا يعتقد ان المعلومات الحالية عن البكتيريات لازالت غير كافية بدرجة قد تسمح باتباع الطرق التقسيمية المشابهة لتلك الخاصة بالنباتات الراقية (نعنى جداول التعرف) .

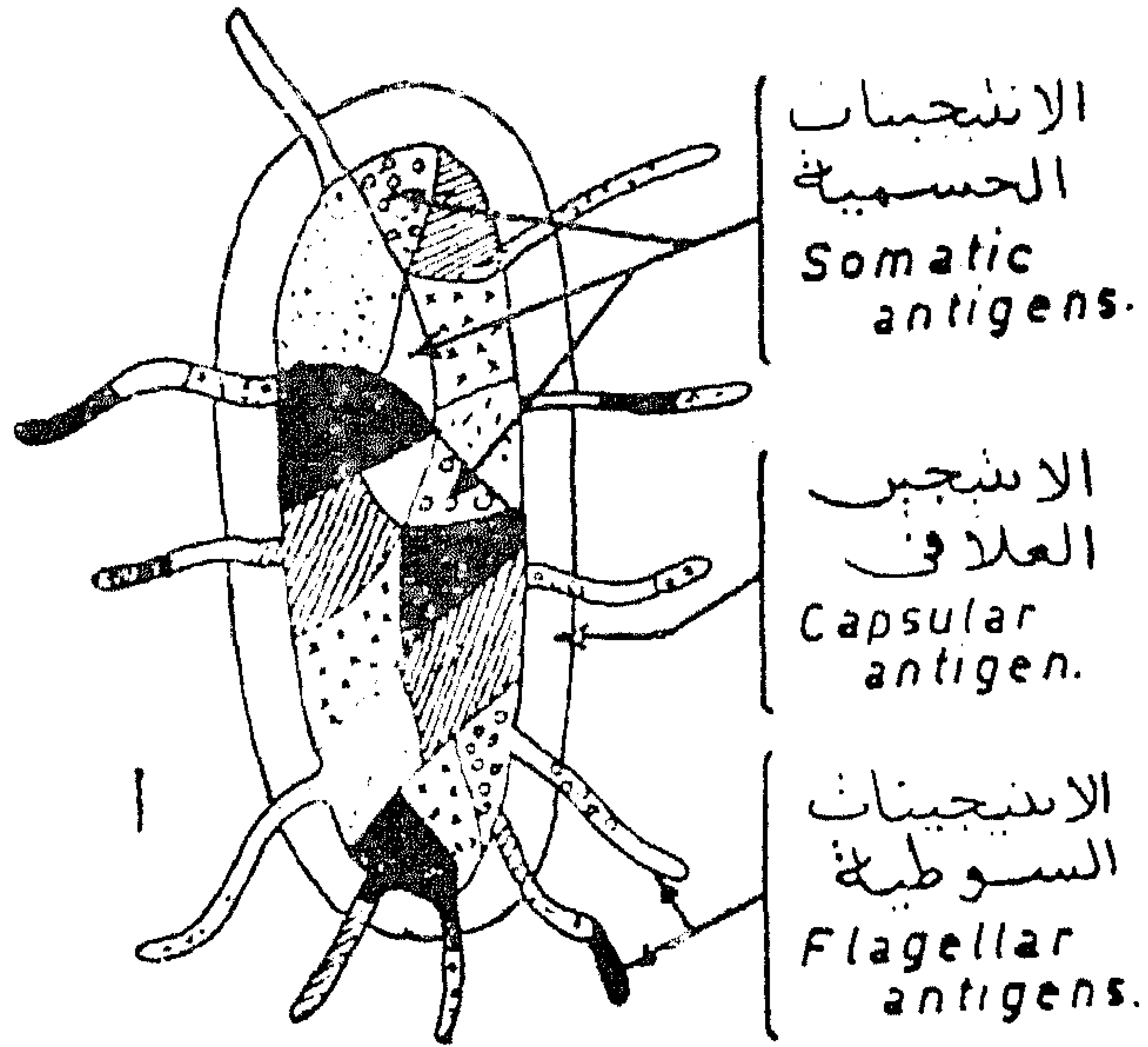
التركيب الانتيجينى Antigenic structure

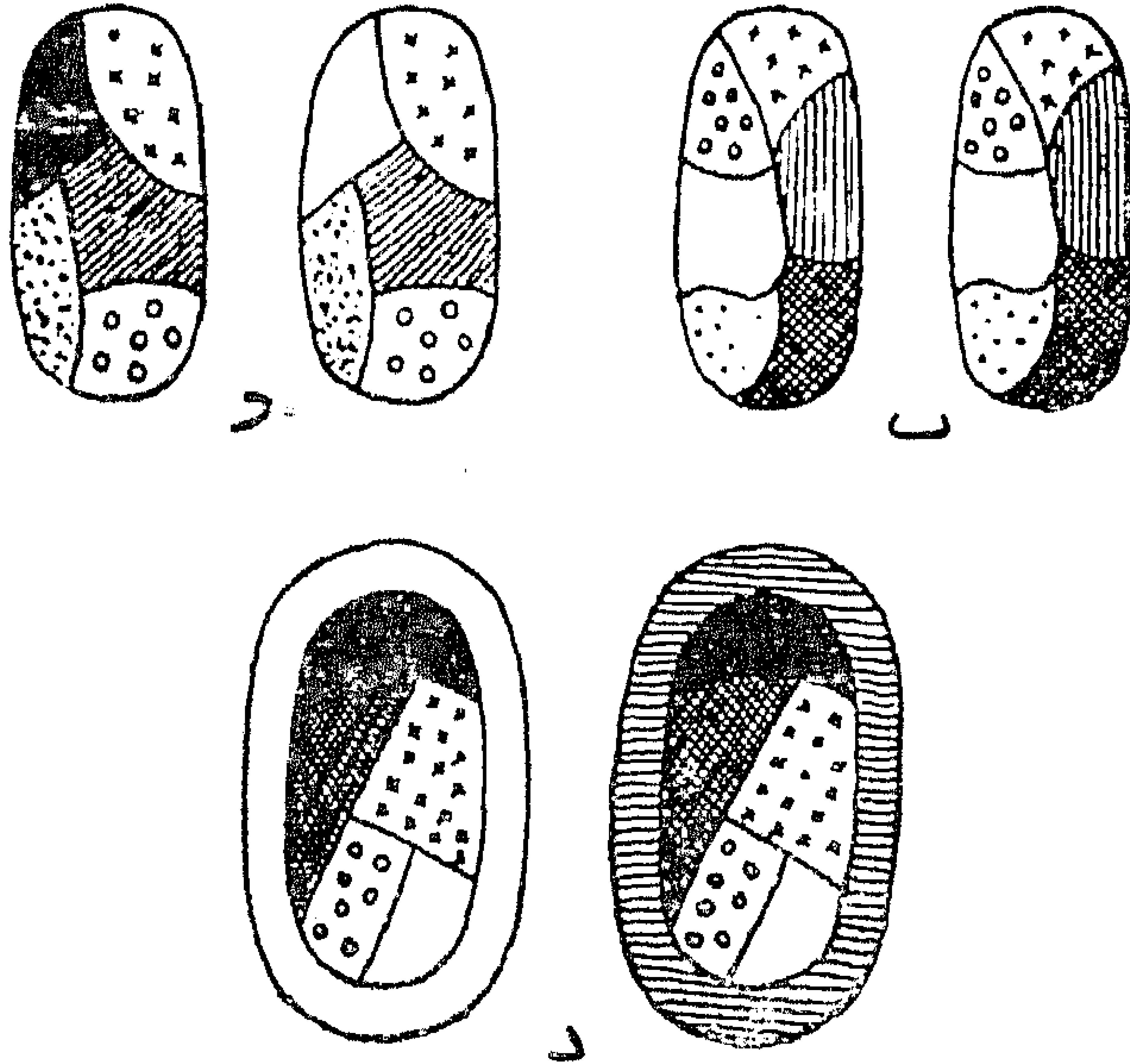
ان القدرة التحصينية لأجسام الحيوانات ضد البكتيريات التى تهاجمها قد مكنت من عزل بعض مواد لها أهميتها فى أغراض التعرف أو التقدير الكمى لما يحتويه الجسم المصاب من البكتيريات المختلفة .

وهذه المواد تعرف بالأمصال المضادة antisera يكون لها قدرة تخصصية ، مرتفعة فهى تتكون بجسم الحيوان نتيجة لحقنه ببعض المواد الذائبة الممكن استخلاصها من الخلايا أو المواد العالقة المكونة من جزيئات غير ذائبة particulate مثل الخلايا الكاملة أو الجدر الخلوية أو البروتوبلاستات العارية وتتلخص صفات هذه الأمصال المضادة فيما يلى :

١ — قدرتها التخصصية المرتفعة . ٢ — حساسيتها الزائدة . ٣ — السهولة النسبية فى تحضيرها . ٤ — اتساع مجال المواد التى يمكن أن تتكون نتيجة لوجودها بأجسام الحيوانات .

وتبعا للنظرية الفردية uniterian theory الخاصة بطبيعة الأجسام المضادة ، فان الانتيجين الفردى يمكنه أن يتفاعل مع المصل المضاد له بجملة طرق فى مختلف الظروف . فمثلا إذا حصن أرنب بخلايا مضعفة حراريا heat attenuated من ميكروب التيفود فان دم هذا الحيوان سوف يحتوى على أجسام مضادة خاصة بخلايا هذا الميكروب . وعند خلط كمية من سيرم





شكل ١٢٨ : التركيب الأنتيجيني للخلايا البكتيرية . (ا) خلية تحتوى على عديد من الأنتيجينات – الجسمية ، والغلافية ، والسوطية – وكل بدوره يحتوى على مجموعة من المواد الأنتيجينية المختلفة . (ب) خليتين ذات محتويات انتيجية متطابقة ، (ح) خليتين متقاربتين تمتلك بعض الأنتيجينات المتطابقة . (د) خليتين تشترك فى محتوياتهما الأنتيجينية الجسمية وتختلف انتيجيناتها الغلافية .

دم هذا الحيوان مع معلق خلايا هذه البكتيريا فانه يتكون ما يسمى بالملبدات agglutinins بهذا المخلوط . أما إذا خاط المصل المضاد بمستخلصات خلوية بدلا من الخلايا الكاملة فانه يتكون بالمخلوط رواسبprecipitatines. ويبدو الأمر مختلفا فى حالة استعمال السموم البكتيرية حيث يتكون بالجسم المحتوى عليها مواد تعرف بمضادات السموم anti-toxins فلما كانت هذه المواد قابلة للذوبان فى الماء فانه لايمكن اظهارها عن طريق اختبارات التلبد agglutination أو الترسب precipitations أو التحلل lysis . ويمكن مشاهدة التفاعلات التى تتم بين الأمصال المضادة والانيتجينات التى تكونها بجملة طرق تبعا لحدوثها فى البيئات السائلة و الصلبة .

هذا ويجب أن نعلم أن الخلية البكتيرية تحتوى على عديد من الانتيجينات المختلفة أو أجزاء منها وأن كلا منها يتكون له بجسم العائل أجسام مضادة خاصة به . فالمجاميع البكتيرية ذات القرابة الوثيقة closely related (التى تنتمى إلى جنس أو نوع واحد) قد تحتوى على انتيجنات متشابهة ولكنها قد تظهر طرزا سيرولوجية مختلفة نظرا لأن هذه المجاميع لا تشترك فى محتوياتها من الانتيجينات المميزة للطرز المختلفة (شكل ١٢٨) .

أنواع التفاعلات السيريولوجية

(أ) التفاعلات التى تتم بالسوائل :

تحدث مثل هذه التفاعلات بين الأجسام المضـــادة وبين كل من الانتيجينات الذائبة وغير الذائبة .

والانتيجينات الذائبة أو أجسامها المضادة تقدر عادة بالطرق التى تتضمن التقدير الكمى للرواسب التى تتكون وذلك باتباع أى طريقة من طرق تقدير البروتينات . وفى حالة الانتيجينات غير الذائبة particulate مثل الخلايا

الكاملة فان التفاعل الذى يحدث بينها وبين الأجسام المضادة يمكن تقديره بظهور تجمعات تؤثر على نظام ترسيب الانتيجين غير الذائب .

ويمكن تحويل اختبارات الانتيجينات الذائبة إلى اختبارات تلبدية agglutination وذلك باتباع أحد الطرق التى من شأنها حدوث امتصاص للانتيجين على جزيئات غير ذائبة أخرى مثل الكرات الحمراء erythrocytes لدم الغنم ، وأن هذه الأخيرة يمكنها أن تتلبد agglutinate مع السيرم المضاد للانتيجين الذائب . ومثل هذه الطريقة تزيد من حساسية الاختبار ولكنها تفقد الكثير من تخصصها حيث لايمكن اتباعها فى التقديرات الكمية . وعموما فان طرق التلبد هذه لايجوز الاعتماد عليها فى التقديرات الكمية .

ويجب أيضا أن نشير إلى تفاعل آخر يمكن اجراؤه مع السوائل وهو إجراء صبغ الأجسام المضادة بصبغات فلورسنتية — وفى هذا الاختبار يضاف مركب فلورسنتى (فلوروسين ايزوسيانات Fluoresein isocyanate) إلى الجاما جلوبيولين بدرجة لاتؤثر على نشاطه . وعند التصاق الأجسام المضادة بالانتيجين يصبغ الأخير بطريقة تسهل مشاهدته وفحصه مجهريا بالمجهر ذو الاضاءة فوق البنفسجية . وهذه الطريقة مفيدة فى حالة الانتيجينات غير الذائبةparticulate ، وكون هذه المادة الفلورسينتية تخصصية فى صبغ الجدر الخلوية لذلك فهى طريقة مفيدة جدا فى تصنيف البكتيريا باستعمال أمصال فلورسينتية Flerorescent reference sera سبق التعرف عليها . وعند استعمال خلايا كبيرة (أكبر حجما من البكتيريا الحقيقية) فان هذه الطريقة يمكن اتباعها لتحديد انتيجينات معينة داخل هذه الخلايا .

(ب) تفاعلات البيئات الصلبة :

تستعمل هذه الاختبارات فقط فى دراسة الانتيجينات الذائبة حيث يمكن لها وكذلك للأجسام المضادة أن تنتشر فى البيئات الصلبة مثل جيل الآجار

agar gel . وتفاعل الانتيجين مع الأجسام المضادة يمكن ملاحظته كمناطق معتمة opaque نتيجة للترسيب الذى يحدث داخل البيئة الصلبة . والتقديرات الكمية لمثل هذا الاختبار تتم على أساس درجة كثافة المناطق المعتمة التى تتكون. وتوجد أجهزة خاصة يمكنها إجراء هذه القياسات . وتتميز هذه الطريقة عن طرق البيئات السائلة بما يلى : ١ — فى حالة استعمال خليط من الانتيجينات المختلفة . يمكن مشاهدة مجموعة من المناطق الترسيبية كل يوضح وجود انتجين معين . ٢ — يمكن بهذه الطريقة التأكد من درجة تطابق الانتيجينات التى يمكن تفاعلها تبادليا corss-react ٣ — يمكن أخذ فكرة واضحة عن الوزن الجزيئى للانتيجينات المستعمله على أساس درجة انتشارها بالبيئة ، وهــذه يمكن معرفتها بتحديد مكان حدوث مناطق الترسيب وكثافتها . ٤ — لايشترط توفر معلومات معينة عن تركيز الأجسام المضادة أو المصل المضاد antiserum وكذلك لايهم معرفة تركيز الانتيجينات المستعملة الأمر الذى تتطلبه اختبارات البيئة السائلة . وليس هنا المجال لسرد تفاصيل اجراء هذه الاختبارات .

الدراسات التى تتطلب طرقا سيريولوجية :

يمكن التعرف على أى مادة بالطرق السيريولوجية طالما لها قدرة على تنبيه جدر الأوعية الدموية للعائل الحيوانى لتكوين أجسام مضادة . فبعض المواد قد تكون انتيجينية فى بعض الحيوانات (بمعنى أنها تنبه تكوين الأجسام المضادة بها) فى حين أنها تكون غير ذلك فى أجسام بعض الحيوانات الأخرى . هــذا ويجب أن نعلم أن اتباع الطرق السيريولوجية لأغراض التعرف على مــدى القرابة بين السلالات البكتيرية تعتمد على أسس غير تلك التى تجرى لأغراض أخرى كالتى تتبع فيها طرقا خاصة مثل استعمال القوة المركزية الطاردة عالية السرعة ultracentrifugation أو clectrophoresis أو chromatography وأن كلا من الطرق الأخيرة يشترط اجراؤها كدراسات تكميلية للطرق السيريولوجية السالفة الذكر . وفيما يلى بعض المشاكل البكتيريولوجية التى يمكن حلها عن طريق الدراسات السيريولوجية .

(ا) التعرف على مدى تجانس التحضيرات البروتينية أو عديدات التسكر التى يمكن عزلها من النظم البيولوجية المختلفة .

(ب) التعرف على كيفية تكون بعض البروتينات المعينة .

(حـ) إذا فرض واحتوى تحضير ما على أكثر من نظام انزيمى واحد . فيمكن عن طريق الدراسات السيرولوجية التعرف على ما إذا كانت هذه النظم مرتبطة بنوع واحد من البروتين أو بأنواع مختلفة من البروتينات .

(د) فى حالة المقارنة بين سلالتين بكتيريتين فانه يمكن بالطرق السيرولوجية التعرف على ما إذا كانت محتوياتها الانتيجينية متطابقة أم لا .

(هـ) إذا فرض وعزل سلالات بكتيرية مختلفة من خلايا نظامين انزيميين لهما نفس النشاط الانزيمى ، فانه يمكن سيرولوجيا التعرف على ما إذا كان نشاطهما مرتبطا بمحتوياتهما الانتيجينية .

(و) إذا فرض وتكونت سلالة تطفرية تفتقر إلى نظام انزيمى معين من سلالة بكتيرية محتوية على هذا النظام الانزيمى . فان اتباع الطرق السيرولوجية قد يبين هل يرجع افتقار السلالة التطفرية إلى النظام الانزيمى الناقص إلى تكوين نوع مخالف من البروتينات غير فعال من الناحية الانزيمية بالرغم من قدرته على التفاعل مع الخلايا تبادليا من الناحية السيرولوجية أم أن ذلك يرجع إلى أن السلالة التطفرية لاتكون بروتينات شبيهة ببروتين ذلك الانزيم .

وغنى عن الذكر ماتؤديه الدراسات السيرولوجية من فوائد فى أغراض تقسيم وتصنيف البكتيريا ، ويجب أن نعلم أن هذا النوع من الدراسات السيرولوجية يعتبر الأساس الذى بنيت عليه الدراسات السيرولوجية الأخرى.

وسوف نشير إلى الاستعمالات الحديثة للطرق السيرولوجية والتى ثبتت أهميتها لدارسى علم البكتيريا المهتمين بالدراسات الوراثية أو بطرق تخليق

المكونات الخلوية الجديدة أو فى دراسة مدى انتشـــار وتركيز المحتـويات الانتيجينية بالخلايا البكتيرية .

تحضير الأمصال المضادة : Preparation of Antisera

حيث أن اتباع الطرق السيريولوجية تكون معتمدة على الأمصال المضادة المعلومة القوة المحضرة بطرق سليمة ، لذلك يلزم أن نبين أولا المشاكل التى تعترض المشتغلين بتحضيرها واختبارها . وفيما يلى نســـوق بعض الأسس البسيطة التى يمكن اتباعها فى هذا الصدد .

(ا) إختيار الحيوان المناسب :

يستعمل عادة الدجاج أو الأرانب فى هذا الغرض نظرا لسهولة تداولها وتجاوبها السريع لعديد من الانتيجينات ، وإلى سهولة الحصول على السيرم من دمها . وكلا هذين النوعين من الطيور أو الحيوانات يمكن الحصول منه على كمية من الدم تعطى كمية من المصل (السيرم) تتراوح بين ٥٠ — ٦٠ مل عندما تذبح وتستنزف ، أو يمكن الحصول على كميات من الدم بشكل عينات اختبارية متتابعة من الحيوان وهو مازال حيا تصل فى مجموعها إلى ٥٠ مـــل ينتج عنها كمية من المصل تقدر بــ ٢٥ مـــل .

وفى حالة الرغبة فى الحصول على كميات صغيرة من المصل أو فى حالة الرغبة فى تحصين عدد كبير من الحيوانات بعديد من التحضيرات الانتيجينية المختلفة فانه يمكن استعمال حيوانات أقل حجما كالفئران الصغيرة أو الكبيرة أو أرانب التجارب المعروفة باسم Guinea pigs :

وعند اختيار الحيوان المناسب يجب أن نضع نصب أعيننا أن التحضير قد يكون ضعيفا من الوجهة الانتيجينية فى نوع ينبه تكوين الأجسام المضادة فى نوع من الحيوانات ولكنه قد يكون قويا من الناحية الانتيجينية داخل جسم

نوع آخر من الحيوانات . ومن ذلك يبدو أنه من المستحسن تحصين أكثر من نوع حيوانى واحد فى نفس الوقت بالمادة الانتيجينية المعزولة .

(ب) جمع وتخزين وتجزىء الأمصال :

Collection, Storage and Fractionation of Sera

يمنع الحيوان عن التغذية لفترة ١٨ ساعة قبل ذبحه . يجمع الدم فى أنبوبة طرد مركزى سعة ٤٠ مل ويترك بها ليتخثر . توضع الأنبوبة بالحضان على درجة ٣٧°م لمدة ساعة واحدة . تفصل التخثرات عن حواف الأنبوبة بواسطة ابرة معقمة وباردة ثم توضع الأنبوبة كما هى فى الثلاجة لفترة ١٢ ساعة . يجمع السيرم ويعامل بالقوة المركزية الطاردة فى أنبوبة أخرى نظيفة لتخليصه مما يكون عالقا به من أجزاء التخثر (الجلطة) . ثم يعاد معاملته بالقوة المركزية الطاردة لتخليصه من خلايا الدم الفردية ويتبع لذلك قوة مركزية طاردة . قدرها ٨×١٠^٣ جاذبية أرضية لمدة خمسة عشر دقيقة . فى معظم الأحوال لاتراعى الشروط التعقيمية عند تحضير السيرم . حيث أنه سوف يعقم فيما بعد بالترشيح بمرشح زيتز . والسيرم المعقم يمكن تخزينه لفترات طويلة جدا على درجة حرارة ٤°م . وأحيانا يضاف إليه بعض المواد الحافظة مثل مركب الميرثيولات merthiolate بتركيز ١/١٠,٠٠٠ ، الا أن هذه المادة الحافظة يصعب ازالتها من السيرم الا عن طريق التخفيف لذلك يجب مراعاة الحرص عند اضافتها إلى السيرم الذى يستعمل فى تحصين الحيوانات . ويمكن أيضا الاحتفاظ بالأمصال (السيرم) لفترة طويلة تحت ظروف الحرارة المنخفضة (٢—٥°م) .

ويفضل اجراء التجزؤ للأمصال المتحصل عليها لبعض الدراسات الخاصة فمثلا إذا أريد تركيز مصل ضعيف أو تنقية الجاماجلوبيولين من المكونات الأخرى تتبع طرقا عدة لإجراء عمليات التجزئة Fractionation .وأبسط هذه الطرق هى تلك التى أوجدها Kekwick (١٩٤٠) والتى تستعمل فيها سلفات الصوديوم (ص$_٢$ كب ا$_٤$) على درجة حرارة الغرفة أو الامونيوم (ن يد$_٤$)$_٢$ كب ا$_٤$.

كما أن طريقة التجزؤ المستعمل فيها كحول الايثايل والتى اقترحها Deutsch (١٩٥٢) ينتج عنها ايضا تحضيرات رائقة . وفى حالة الرغبة فى زيادة تركيز السيرم فقط فان القيام باتباع أحد هذه الطرق يتطلب مراعاة ضبط كل من درجة الحرارة ، وقيمة الpH ، وقوة الايونات المعدنية بالتحضير . واتباع هذه الطرق يسمح بالحصول على ٧٠٪ من الأجسام المضادة النشطة . ومايمكن التحصل عليه من جاماجلوبيولين يوضع بكيس الفرز الانتشارى dialysis bag ويعلق فى محلول من كلوريد الصوديوم يتراوح تركيزه بين ٥ر—٩ر٪ لمدة ١٢ ساعة ثم يقاس الحجم وتعبأ أحجام مناسبة فى أنابيب صغيرة وتحفظ بالطريقة اللايوفيلازية .

(ح) تحضير الانتيجين لأغراض الحقن : Preparation of Antigen for injection

تختلف طرق تحضير الانتيجينيات تبعا لنوعها (ذائبة soluble ، أو غير ذائبة parrticlate) . وهناك عدة طرق الا أن عددا قليلا منها قد ثبت أهميته .

١ — الانتيجينات غير الذائبة : Pariculate antigens

يمكن الحصول على انتيجينات الجدر الخلوية باستعمال الخلايا الكاملة المغسولة عدة مرات فى محلول منظم Buffered من ملح الطعام ثم يعاد تعليق الخلايا فى ١ مل ص كل ، لتعطى كثافة ضوئية Optical density مساوية للوحدة باستعمال موجة ضوئية ذات طول ٢٥٠ ميللى ميكرون .

ويجب مراعاة الاحتياطات التالية عند تحضير معلق الخلايا لاستعمالها فى الحقن . (ا) تفضل الخلايا التى تنمى فى بيئات تركيبية سائلة حيث أن المستخلصات الطبيعية مثل مستخلص اللحم والآجار قد تحتوى على بعض المواد الانتيجينية . (ب) يفضل استعمال الخلايا وهى فى طورها اللوغاريتمى أو بعد بدء الطور الثابت من النمو حسب الرغبة ، الا أنه لانتاج سيرم مضاد للجدر الخلوية anti -

cell wall serum فان الخلايا المستعملة فى أوائل الطور الثابت أو عقب انتهاء الطور اللوغاريتمى مباشرة تعطى افضل النتائج . وفى بعض الحالات الخاصة كما فى حالة خلايا *Pneumococci* يلزم عمل الاحتياط اللازم فيما يختص بعدد الخلايا وقيمة pH المعلق حتى لاتتحلل الخلايا ذاتيا .

وتحضيرات الخلايا المتحصل عليها بعد النمو الكافى وبعد إجراء غسيلها لازالة مايعلق بها من البيئة قد تعامل بالحرارة أو بالفورمالين لقتلها . ومثل هذه التحضيرات يمكن الاحتفاظ بها بالثلاجة للفترة اللازمة لاجراء الحقن .

وبعض التحضيرات من الخلايا البكتيرية مثل تلك الخاصة بالبكتيريا Pneumococciتكون صالحةلأغراض الحقن طالماأظهرت الخلاياتفاعلا موجبا لصبغة جرام . لذلك فيفضل دائما فحص الخلايا مجهريا واختبار قدرتها الاصطباغية قبل استعمالها فى أغراض الحقن .

٢ — الانتيجينات الذائبة : Soluble antigens

تعتبر الطرق التى تتضمن ادمصاص الانتيجينيات الذائبة على سطوح مواد أخرى غير الذائبة مثل ايدروكسيد الالمنيوم أو فوسفات الالمنيوم أو فى مستحلب ثابت من الماء والزيت ، من أفضل الطرق المتبعة فى هذا الصدد . والخطوات التالية تبين طريقة تجهيز انتيجين عن طريق الترسيب بمركبات الالمنيوم alum-precipiteted antigen

١ — يضاف إلى المحلول البروتينى (ذو التركيز ٥,٠٪) حجم من محلول ١٠٪ من المركب لو $_٢$ (كبا$_٤$) $_٣$ ، بو$_٢$ كبا$_٤$ — ٢٤ يدا $_٢$ ليعطى وزنا كليا مساويا ٢,٥ × وزن البروتين .

٢ — تضبط قيمةاا pH إلى ٧ باضافة محلول ١,٠ أساسى من صوديد . ليتكون راسب نتيجة للاتحاد مع الانتيجين . يختبر الراشح للتأكد من ارتباط كل من البروتين مع مركب الألمنيوم المعقد . فاذا وجد أنه لم يترسب كلية .

يضاف مزيد من مركب الألمنيوم كما سبق . ويستعمل المعلق الناتج فى أغراض الحقن .

(د) طرق الحقن ومواعيدها وكمية الانتيجينات المحقونة :

Injection Routes, Schedules and Dosages

هناك عدة طرق لاجراء حقن الحيوانات بالتحضيرات الانتيجينيـــة المختلفة ، والطرق التى سوف نذكرها هنا هى تلك التى ينصح بها كثير من المشتغلين بهذا الميدان وأخصهم كون Cohn (١٩٥٢) .

والانتيجينات المختلفة سواء كانت تحضيرات بروتينية مرسبة بطريق مركبات الالمنيوم أو على صورة محلول ، أو معلقات فيروسية ، يمكن حقنها بجسم الحيـوان بجملة طرق . فى الأوردة intravenously أو فى الغشــاء البريتونى intraperitoneally أو تحت الجلد subcutaneously والتحضيرات التى تكون فى صورة مستحلب من الزيت والمياه تحقن فقط فى الغشاء البرتونى أو تحت الجلد . ومن المعتاد تغير طرق الحقن حسب ماإذا كان التحضير فى محلول أو فى معلق . ويقل تسمم الحيوان عادة إذا مابدأت عمليات الحقن ، باتباع طريقة تحت الجلد فى الأيام الأولى ثم يمكن بعد ذلك اتباع الطرق الأخرى من الحقن .

ويشترط إجراء الحقن فى مواعيد منتظمة للحصول على نتائج مرضية ، ففى حالة التحضيرات المرسبة باستعمال مركبات الالمنيوم ، والمحاليل ، أو المعلقات ، يشترط إجراء الحقن يوميا لفترة أربعة أيام متتالية . ثم يترك الأرنب بدون حقن لفترة الثلاثة أيام الأخرى من الأسبوع ، وفى حالة المستحلبات يشترط حقنها مرة كل أسبوع . وعموما يستمر حقن الحيوان لمدة أربعة أسابيع متتالية ، يختبر بعدها ، فاما أن يؤخذ دم الحيوان تدريجيا خلال أسبوع واحد ، وفى هذه الحالة قد يحتفظ بالحيوان لحقنه مرة أخرى بنفس الانتيجين ، أو أن يذبح ويؤخذ دمه دفعة واحدة .

وفى حالة الحيوانات التى لاتستجيب جيدا فى فترة الأربعة اسابيع ، فيجب ايقاف عمليات التحصين حيث أن ذلك سيؤدى إلى الحصول على سيرم ضعيف ذا فاعلية تخصصية ضعيفة less specifc

وكميات الانتيجين التى تحقن بالأرنب تختلف أيضا . وهنا يجب أن نوازن بين عدم الاسراف فى استعمال الانتيجينيات التى قد تكون نادرة . وبين حقن الكمية الكافية لتكوين الأجسام المضادة بجسم الحيوان . فللحصول على الأمصال المضادة من البكتيريا يحقن عادة معلق من الخلايا بتركيز ١٠^٩ خلية لكل مليلتر واحد . ويتدرج فى حقن كميات متزايدة من الانتيجين . ففى اليوم الأول تحقن كمية ٠,٢ — ٠,٣ مل من المعلق وتزداد بالتدريج حتى تصل إلى ٢ — ٣ مل كل مرة فى الأسبوع الأخير من الحقن .

وفى حالة الفيروسات البكتيرية والتى يتحصل عليها عن طريق القوة المركزية الطاردة المنخفضة ثم المرتفعة السرعة (٣×١٠^٣ جاذبية أرضية لمدة ١٥ دقيقة ثم ٢×١٠^٤ جاذبية أرضية لمدة ساعة) يمكن الحصول على سيرم جيدلها ، بحقن معلق منها تدريجيا لمدة أربعة اسابيع بحيث يعطى فى كل مرة كمية تحتوى ٤×١٠^١١ جزئ فيروسى . وقد تم الحصول على نتائج لابأس بها عند حقن ٠,١ مل من معلق أى من سلالات البكتيريوفاج ت٢ ، ت٥ تحتوى على ١٠^١٢ جزئ فيروسى ١مل فى قاعدة أحد الأقدام الخلفية للأرنب وكمية ٠,٢ مل بالوريد يوميا لمدة أربعة أسابيع .

وتحضيرات الفيروسات البكتيرية مهما بلغت درجة نقاوتها تحتوى على بعض المواد الغريبة التى يكون بعضها ساما للحيوان . من ذلك يلزم بدء برنامج الحقن بعد إجراء خمس حقن تحت الجلد للتأكد من خلوها من المواد السامة ثم تتبع أحد الطرق السالفة الذكر .

والانتيجينات البروتينية المرسبة بواسطة مركبات الألمنيوم عندما تحقن

بأجسام الأرانب أو الدجاج بكمية ٢٠ — ٣٠ ملليجرام للحيوان الواحد خلال الفترة الكلية للحقن ، ينتج عنها تكون كمية لابأس بها من المصل المضاد . وفى حالة خليط البروتينات فانه يشترط زيادة الكمية الكلية من الانتيجين المحقون بالحيوان (١٠٠ ملليجرام) لغرض الحصول على تنبيه أنسجـة الحيـوان بالبروتين الأقل تركيزا فى المخلوط . وللحصول على مصل مضاد للمكونات ذات التركيز المنخفض بالمخاليط ، يشترط أيضا حقن كمية كبيرة من الانتيجين خلال فترة أقصر (٣ أسابيع بدلا من أربعة) . وللحصول على مصـل مضاد للمكونات الرئيسية (ذات التركيز المرتفع بالمخاليط) يشترط استعمال كمية صغيرة من الانتيجين المخلوط (عدة ملليجرامات) خلال فترة أطول (٦—٨ أسابيع) .

الاستنزاف الاختبارى أو النهائى : Test bleeding and terminal bleeding.

فى حالة الدجاج تفرد الأجنحة على منضدة ويوضع على كل منها ثقل مناسب من أكياس الرمل . ويمكن أخذ عينات من الدم من أحد الأوردة المتواجدة فى أسفل أحد الأجنحة . وفى حالة الأرانب يمكن أخذ عينات دم للاختبار من أحد أوردة الأذن وعند القيام باستنزاف دم الحيوان أو الطائر نهائيا فان ذلك يحدث بعمل ثقب فى قلب الحيوان ويتعرف على ذلك بحقـن إبرة طويلة فى المنطقة التى يحس منها الباحث نبض قوى . وعادة توصل الإبرة الطويلة بانبوبة من مادة البولى اثيلين ويجمع الدم فى أنابيب طرد مركزى نظيفة . ثم تتبع الطرق السالف ذكرها فى تحضير الأمصال المضادة .

ومن المعروف أن المصل الجيد، ما كانت محتوياته من النيتروجين تصل إلى عدة مئات من الميكروجرامات لكل ميليتر واحد منه . إلا أن الأمصال الأضعف من ذلك، يمكن استعمالها فى التفاعلات التى تجرى بالبيئات الصلبة.

والأمصال المتكونة ضد الانتيجينات السوطية antiflagellar sera قد

تظهر نهاية لنشاطها end point على تخفيفات مرتفعة تصل إلى ١ : ١٠°. هذا والأجسام المضادة التى تحدث تلبدا فى الانتيجينات الجسمية ذات نقطة نهائية على تخفيفات عالية تتراوح بين (١ : ١٠³ إلى ١ : ١٠⁴) . والأمصال العادية يشترط أن تكون ذات قوة ملبدة agglutinating titer لتركيزات مرتفعة من خلايا البكتريا تقدر ١ : ١٠. لذلك يلزم أن يكون المصل المستعمل على درجة عالية من التركيز .

من ذلك يلاحظ أن للاستنزاف الاختبارى أهمية كبيرة أثنـــاء فترة الحقن للتأكد من تركيز المصل المتكون . هذا وتلازم القوة التلبدية agglutinating titerمع تركيز الأجسام المضادةويبدو أنهيعتمدكثيرا على كل من الانتيجين والمصل المضاد .

أولا — الطرق الوصفية لاستعمال الأمصال المضادة :

Qualitative methods for using Antisea

١ — الاختبارات التلبدية : Agglutination tests

من السهل جدا إجراء الاختبارات التلبدية وتفسير نتائجها . لذلك فهى الطريقة السيريولوجية المفضلة لاختبار وتحضير الانتيجين الخلوى المناسب . وفى حالة احتواء الخلايا على تركيب انتيجينى عام فانه يمكن التفرقة بين الأنواع البكتيرية باتباع طريقة امتصاص الملبدات agglutinin-absorption techique والتى سيلى وصفها فيما بعد .

ومن ضمن أمراض الانسان التى تستعمل فيها الاختبـارات التلبـدية كوسيلة من الوسائل التشخيصية مايلى : الحمى التيفودية . والأمراض الناتجة عن أفراد الجنس *Salmonella* . والأمراض الناتجة عن أنواع الجنس *Brucella*والحمى التيفوسية . ولايقتصر استعمال الاختبارات التلبدية عـــلى تشخيص الأمراض المعدية بالمعمل نتيجة لحدوث التلبد بانتيجين معلوم مع

مصل دم الانسان المصاب ، بل يمكن أيضا عن طريقها التعرف على الأنواع المجهولة من البكتيريات أو الريكيتزيات أو الفيروسات بمعرفة قدرة الأمصال المضادة المعلومة فى تلبيد خلايا أو جزيئات المزارع المجهولة . والاختبار المعروف باسم اختبار فيدال Widal test قصد به أول الأمر التعرف على الاصابة بالحمى التيفودية حيث يختبر تلبد خلايا مزرعة ميكروب التيفود بسيرم من دم الانسان المصاب ولايقتصر استعمال هذا الاختبار على هـذا المرض فقط بل يستعمل فى التعرف على الاصابات البكتيرية بكائنات أخرى غير ميكروب التيفود *Salmonella typhosa*

وهناك اختبار تلبدى آخر يعرف باسم تفاعل فيل — فيلكس Weil-Felex reaction ويعتمد هذا الاختبار على الحقيقة القائلة بأن عديدا من الريكيتزيات يمتلك انتيجيناعاما ومشابها لذلك المتواجد بخلايا أنواع الجنس البكتيرى *Proteus* من ذلك فان سيرم دم الحيوانات المصابة بالريكيتزيات يمكنها أن تلبد معلق الخلايا التابعة لجنس *Proteus*

وتقسم الاختبارات التلبدية إلى قسمين :

١ — اختبارات ماكروسكوبية Macroscopic عندما يجرى الاختبار فى أنابيب صغيرة تعرف بأنابيب التلبد تفحص بالعين المجردة ، ٢ — اختبارات ميكرسكوبية Microscopic عندما يخلط الانتيجين مع المصل المضاد على شريحة زجاجية ويتم الفحص مجهريا .

(ا) الأختبارات الماكروسكوبية :

أن اتباع هذه الطريقة لايؤدى فقط إلى التيقن من حدوث التلبد بـل يؤدى أيضا لمعرفة التركيز التقريبى لكل من الانتيجين والمصل المضاد الذى يحدث عليه الترسيب حيث أن المصل المضاد يخفف تسلسليا ويخلط بكـل تخفيف كمية موحدة من معلق الخلايا البكتيرية . ويجـرى تخفيف السيرم

باستعمال محلول ملح فسيولوجي فى عدة أنابيب صغيرة . ويراعى ترك انبوبة بدون مصل يوضع بها كمية مماثلة من محلول الملح الفسيولوجي للمقارنة . تحضن الأنابيب وتفحص بالعين المجردة لحدوث التلبد . يراعى عدم حدوث تلبد للخلايا البكتيرية فى أنابيب المقارنة . أما إذا حدث ذلك فان النتائج المتحصل عليها فيما يختص بحدوث التلبد من عدمه لا يمكن الاعتماد عليها . وحدوث التلبد بالأنابيب على التخفيفات المرتفعة من المصل تعنى ارتفاع ، تركيز الأجسام المضادة high titer بالمصل المضاد المحضر .

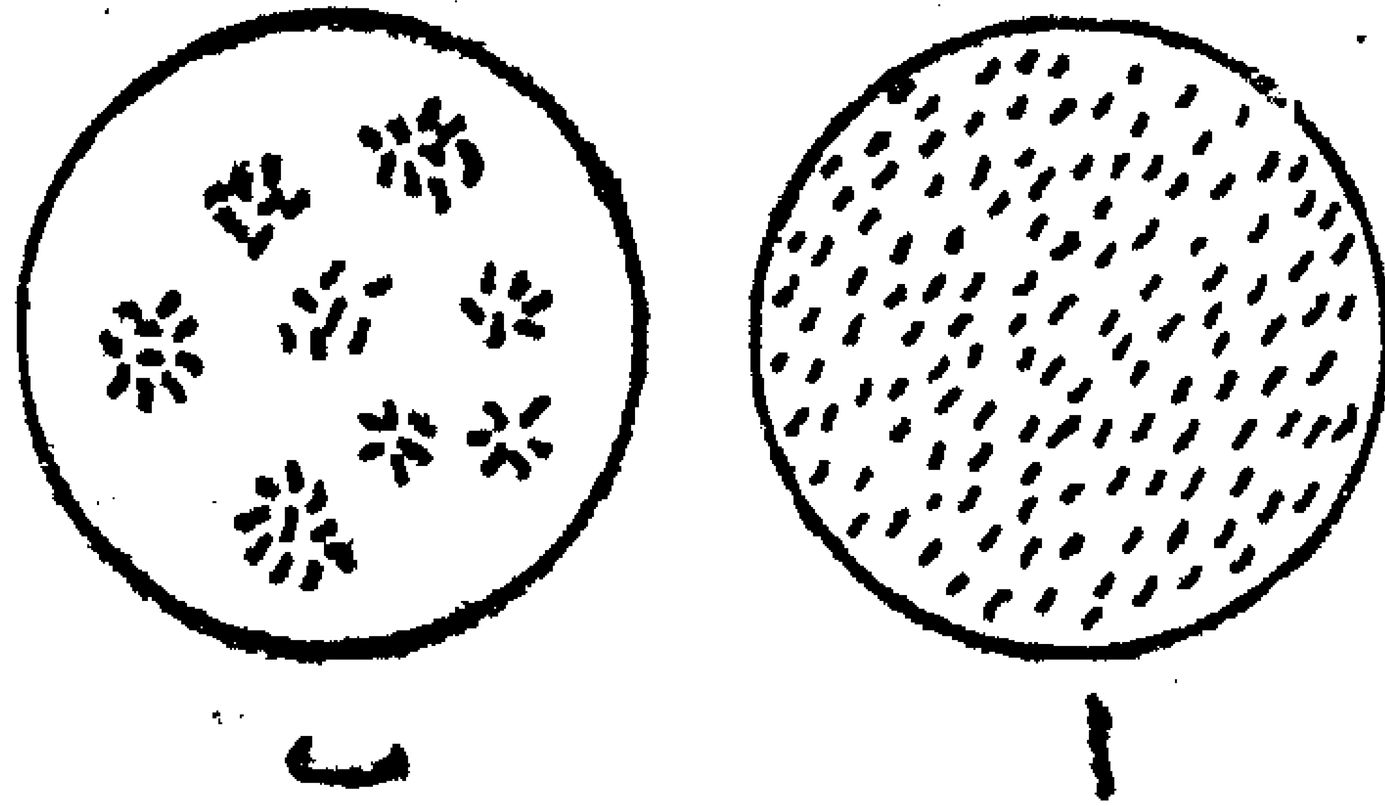
(ب) الطريقة الميكروسكوبية :

يجرى تخفيف المصل المضاد المحضر بمحلول ملح فسيولوجي للحصول على تركيزات متسلسلة . ثم تؤخذ نقطة (بابرة تلقيح) من كل تخفيف وتوضع فى وسط غطاء شريحة زجاجي منفصل ثم يضاف لكل منها نقطة من معلق الخلايا البكتيرية الحديثة السن وللمقارنة توضع نقطة مماثلة من محلول الملح الفسيولوجي فقط على غطاء شريحة زجاجي وتخلط أيضا بنقطة من الانتيجين المستعمل . ثم يقلب غطاء الشريحة فوق تجويف فى الشريحة المجوفة ويثبت بها بقليل من الفازلين لمنع التبخر . وتوضع الشرائح بالحضان (٣٧°م) لمدة ساعة واحدة ثم تفحص بالعدسة الشيئية الكبرى لمشاهدة تجمع الخلايا البكتيرية كما هو موضح (بشكل ١٢٩) .

فى حالة الأمصال المضادة المتجانسة فان تخفيف $\frac{١}{٢٠}$ يمكنه أن يحدث تلبدا للخلايا خلال ١٥ دقيقة أو أقل على درجة حرارة الغرفة . وتستعمل هذه الطريقة للتعرف السريع على المزارع البكتيرية المجهولة باستعمال أمصال مضادة معروفة .

(حـ) اختبارات امتصاص الملبدات : Agglutinin absorption tests

أن الكائنات المتقاربة مثل الريكتزيات المختلفة أو أنواع الجنس *Salmonella*



شكل ١٢٩ : النتائج المتحصل عليها من طريقة التلبد الميكروسكوبية .
(ا) اختبار سالب يلاحظ انتشار الخلايا بانتظام فى الحقل الميكروسكوبى .
(ب) اختبار موجب ، يلاحظ تجمع الخلايا البكتيرية (حدوث تلبد) .

أو أنواع الجنس *Shigella* تحتوى على انتيجينات متشابهة وعامة بدرجة أن الأنواع المختلفة للجنس أو السلالات التابعة للنوع الواحد تحدث تلبدات عند تفاعلها مع الامصال المضادة الخاصة بالأنواع أو السلالات الأخرى فى المجموعة . ولايضاح ذلك نفترض أن أجساما مضادة تكونت ضد الكائن البكتيرى (س) ومن التحليل نجد أن الانتيجينات التى تحتويها خلايا (س) تتكون من التجزؤات ا ، ب ، حـ ، د . وأن المصل المضاد الذى يتكون سوف يحتوى على أجسام مضادة هى عبارة عن أ ¯ ، ب ¯ ، حـ ¯ ، د ¯ ، ويمكنها أن تلبد خلايا (س) على تركيزات مرتفعة . فاذا كان لدينا كائن (ع) يحتوى على الانتيجينات ا ، و ، ز ، ح يكون الانتيجين ا مشتركا بين الكائنين فان خلايا الكائن البكتيرى (ع (يمكن تلبيدها باستعمال المصل المضاد المحضر ضد البكتيريا (س) . وإذا لم نتفهم طريقة التلبد المتبادل بين الأنواع البكتيرية فان النتائج الممكن التحصل عليها من اختبارات التلبد الروتينية البسيطة تكون مضللة . ولاعطاء الدليل على حدوث التلبد المتبادل فانه يتبع طريقة اختبار امتصاص الملبدات ، والنتائج المتحصل عليها حينئذ تكون ذات أهمية فى ، أغراض التعرف ، وفى حالة هذه الاختبارات فانه يمكن التأكد من النظام الانتيجينى للكائنات المتقاربة مثل أنواع جنس *Salmonella*

وتجرى هذه الاختبارات باستعمال معلق مركز من خلايا البكتريات المراد دراسة نظامها الانتيجينى . تخلط هذه المعلقات المركزة بما يقرب من ١٠ أجزاء من السيرم المخفف بمحلول ملح فسيولوجى بدرجة ١ : ١٠ فى أنبوبة طرد مركزى ثم توضع بالحضان (٣٧°م) لمدة ساعتين مع الرج كل نصف ساعة ، ثم تترك بالثلاجة لفترة ١٢ ساعة أخرى . بعد ذلك تفصل الخلايا عن السيرم بالقوة المركزية الطاردة ويفصل الراشح وتختبر قدرته التلبدية بخلط كمية منه بكمية انتيجين متجانس ومعروف . ولأغراض المقارنة تخلط بعض من السيرم غير الممتص not absorbed (سيرم عادى) ببعض الانتيجين المتجانس المتعرف عليه ثم تخلط كمية أخرى من الراشح المتبقى بكمية من انتيجين غير متجانس . فعند حدوث التلبد وبالتالى عند حدوث نقص فى تركيز الأجسام المضادة يدل على وجود التشابه فى التركيب الانتيجينى .

٢ — اختبارات الترسيب :

سبق أن بينا أن اختبارات الترسيب يستعمل فيها انتيجينات ذائبة مثل مستخلصات الخلايا البكتيرية . وهذه تخلط بالأجسام المضادة الخاصة بها ، ففى حالة الاختبارات الايجابية تتكون رواسب مميزة وبهذه الطريقة يمكن التعرف على المستخلصات البكتيرية أو بقع الدم باستعمال الأمصال المضادة المعروفة . وتستعمل هذه الطريقة أيضا فى أغراض التعرف على العوامل المعدية فى بعض الأمراض مثل الجمرة الخبيثة عندما تخلط انتيجين معلوم مع مصل من دم الحيوان المصاب ويجرى اختبار الترسيب precipitin test تخلط الانتيجين مع السيرم المضاد فى انبوبة اختبار أو عن طريق وضع المادتين بحرص فى انبوبة ضيقة ومشاهدة تكون حلقة ترسيبية فى مكان اتصالها . وكما هو الحال فى الاختبارات السيريولوجية المختلفة يجب تواجد مادة متأينة electrolyte مثل (ص كل) لكى يتم التفاعل .

أن اختبارات الترسيب هذه ليست مقصورة على الأغراض التشخيصية

للعدوى البكتيرية للانسان والحيوانات الأخرى حيث أن لها استعمالات أخرى منها

١ — التعرف على مرض الزهرى syphilis بالمعمل عندما يتواجد انتيجين غير متخصص ولكنه يتبع جنس *Spirochaeta* . ٢ — التعرف على طرز البكتيريا Streptococci المحللة للهيموجلوبين . ٣ — التعرف على أنواع الحيوانات صاحبة الدم الملوث للملابس أو الأسلحة (الأمر ذو الأهمية البالغة فى أعمال الطب الشرعى) . ٤ — تشخيص حالات الوفاه بالجمرة الخبيثة باختبار يعرف Ascoli test . ٥ — تعيين نوع الحيوانات التى يكون الباعوض قد تغذى عليها حديثا ومثل هذه المعلومات تفيد علماء الحشرات والمهتمين بانتشار الأوبئة لمنع انتشار الأمراض التى تحملها الحشرات .

ويحضر الانتيجين اللازم لاختبارات الترسيب باستخلاص الخلايـا ، البكتيريةأو الأنسجة أو المواد المناسبة الأخرى . فمثلا فى اختبار اسكولى Ascoli للتعرف على مرض الجمرة الخبيثة . يؤخذ ١ — ٢ جم من أنسجة طحـال الحيوان الميت وتغلى لمدة ٥ — ١٠ دقائق فى كمية قليلة (عدة مليلترات) من محلول ملح فسيولوجى . ويجرى الاختبار بوضع ١ مل من المستخلص فوق ١ مل من السيرم المضاد والمحضر بحقن أرنب بخلايا ميتة من ميكروب الجمرة الخبيثة .

وتحضر الانتيجينات فى أغراض تصنيف طرز Streptococci بأخذ مزارع حديثة (٢٤ — ٤٨ ساعة) ثم تستخلص باستعمال محلول ص كل $\frac{١}{٥}$ أساسى لتعطى محلولا رائقا يحتوى على مواد يمكن ترسيبها وذلك بتعديل قيمة الpH إلى «٧» باستعمال محلول ص ايد $\frac{١}{٥}$ أساسى ذائبة فى محلول فوسفاتى. وتعرف المجاميع السيرولوجية للبكتيريا Streptococci (A, B, C, D,E, F, G,) تبعا لوجود الانتيجين الجسمى المكون من كربوايدرات والذى يطلق عليه اسم المادة «C» كما تعرف الطرز السيرولوجية المختلفة بوجود المادة «M» بجدر

خلايا هذه البكتيريا وتزال الرواسب غير التخصصية للطـــرز non-type specefic pricepitins بامتصاصها بالأجسام المضادة الموجودة بالسيرم المضاد باستعمال انتيجين سلالة غير متجانسة من Streptococci . والانتيجين المحضر بالطريقة السابقة سوف يحتوى على كل من المادة «C» التخصصية للمجموعة group specific وكذا على المادة «M» التخصصية للطراز type-specific ويجرى الاختبار بوضع طبقة من السيرم المضاد للطرز وطبقة مماثلة من الانتيجين فى أنبوبة شعرية توضع فى وضع قائم على حامل خاص . فاذا كان الاختبار موجبا تظهر حلقة عكرة فى منطقة الاتصال بالمحلولين بعد عدة دقائق . وبهذه الطريقة يتعرف على المجموعة فاذا فرض أنها كانت تابعـــة **للمجموعة** « A » فيلزم إذن اختبار الانتيجين مع المصل المضاد للطرز التى تحتويها هذه المجموعة (A) للتعرف على الطراز المجهول .

اختبارات تثبيت المواد المكملة : Complementffxation test

تعتمد هذه الاختبارات على وجود أجسام مضادة محللة للخلايا Cytolytic فى سيرم الدم . وتعرف مثل هذه الأجسام المضادة باسم محللات البكتيريا bacteriolytic amboceptors أو محللات كرات الدم الحمراء hemolytic-amboceptors وهى تتكون بجسم الحيوان عقب حقنه بانتيجينات هى عبارة عن خلايا بكتيرية فى الحالة الأولى أو كرات دم حمراء فى الحالة الثانية .

وتجرى اختبارات تثبيت المواد المكملة هذه للتأكد من وجود أو غياب محللات بكتيرية معينة بسيرم الحيوان . تتضمن هذه الاختبـــارات نظامين معينين . أحدهما يتضمن دراسة النظام التحللى لخلايا البكتيريا فى السيرم الذى يضاف إليه معلق بكتيرى (أو أى انتيجين آخر) وتخلط به المواد المكملة . فإذا كان الانتيجين المضاف وكذا الأجسام المضادة بالسيرم لها القدرة على الاتحاد فى وجود المواد المكملة ، فيقال فى هذه الحالة أن الأجسام المكملة قد ثبتت . والنظام الآخر وهو النظام التحللى لكرات الدم يعتبر نظاما استكشافيا

فى الاختبار . وتحضر محللات الدم هذه بحقن كرات الدم الحمراء لدم الأغنام فى جسم أرنب وبعد إجراء التحصين بالأنتيجين البكتيرى يؤخذ السيرم المضاد ويضاف إلى كرات حمراء من دم الأغنام فاذا احتوى السيرم على المواد المكملة complement فان كرات الدم تتحلل . أما إذا كانت المواد المكملة قد ثبتت بالسيرم أثناء تفاعل المحللات البكتيرية مع الانتيجين فانه لايحدث تحلل لكرات الدم الحمراء . لذلك فان حدوث تحلل لكرات الدم الحمراء يعنى اختبارا سالبا فيما يختص بتثبيت المواد المكملة والعكس صحيح . ومن الواضح أن كل المواد التى يتضمنها هذا الاختبار يجب أن تكون ذات تركيزات معينة ومضبوطة ويستعمل هذا الاختبار فى الأغراض التشخيصية بالمعمل لكثير من الأمراض المعدية المتسببة عن البكتيريات أو الفيروسيات أو الريكيتزيات أو البراتوزوات أو الفطريات كما أنها تستعمل أيضا فى أغراض التعرف على كثير من البكتيريات وعلى نواتج تفاعلاتها الايضية .

الطرق السيرولوجية الكمية : Quantitative serological methods

أن المصل المضاد الذى يمكن تقدير محتوياته من الأجسام المضادة بالدقة الكافية يعتبر مادة تخصصية كمية لقياس الانتيجينات الذائبة . وهناك جملة طرق خاصة بتقدير كمية الأجسام المضادة فى الأمصال المضادة وفيما يلى أهمها وأكثرها استعمالا .

(ا) التفاعلات التى تتم فى السوائل :

أن تقدير الأجسام المضادة الحرة تختلف كثيرا عن تقدير الأجسام المضادة المرسبة.وتوجد أيضا بعض الطرق التى تعتمد على صبغ أو ضوئية تعتمد على تغيير الصفات البصرية لجدر الخلايا .

والأجسام المضادة المرسبة تقدر أوليا باتباع طرق الترسيب الكمية والتى يضاف فيها كميات معلومة من الانتيجين إلى المصل المضاد وتترك فترة ليحدث

الترسيب ثم تجمع الرواسب وتغسل وتقدر بأحد طرق التقدير الكمى للبروتين وعادة تتبع طريقة كلداهل Kjeldahl فى تقدير البروتين كميا فى الرواسب الناتجة . وعن طريق تقدير النيتروجين باتباع طريقة كلداهل كطريقة قياسية يمكن اتباع بعض الطرق الأخرى لتقدير درجة التفاعل الذى يتم بين الانتيجين والأجسام المضادة . ومن أمثلة هذه الطرق الأخرى قياس درجة التعكير turbidity التى تقاس بجهاز الاسبكتروفوتومتر .

(ب) التفاعلات التى تجرى فى البيئات الشبه صلبة : Reaction in gles

هناك جملة طرق لاجراء مثل هذه التفاعلات وتعتمد جميعها على درجة انتشار الانتيجين الذائب أو الأجسام المضادة أو الاثنين معا خلال جيل الآجار agar gel حيث يمكن مشاهدة آثار تفاعلها بشكل مناطق عكرة نتيجة لحدوث الترسيب . ويفضل استعمال هذه الطريقة لتحليل أو للتعرف على مكونات ، المواد المتفاعلة المخلوطة لما يلى من مميزات : ١ — يمكن البدء بتركيزات ذات مجال واسع من المواد المتفاعلة حيث أن التدرج فى انتشار المواد المتفاعلة سوف يسمح بحدوث التوازن بين تركيز الانتيجين والأجسام المضادة .٢ — يمكن حدوث تفاعلات للمكونات المختلفة للانتيجين المخلوط المستعمل مع عديد من الأجسام المضادة التى توضع فى أماكن مختلفة فى الآجار حيث يمثل كل مكون من مكوناته منطقة تفاعل منفصلة . ٣ — يسهل التعرف على وجود المكونات التى يمكن تفاعلهـا تبـادليا cross-reacting components فى التحضيرات المختلفة . ٤ — يتطلب هذا النوع من الاختبارات كميات صغيرة نسبيا من الأمصال المضادة . ٥ — يمكن ملاحظة تكوين المركبات البكترية الانتيجينية أثناء تكون المستعمرات البكترية النامية على آجار محتوى على أمصال مضادة معينة .

وتستعمل عدة طرق تعتمد على الانتشار بالآجار منها طريقةايودين Oudin (١٩٥٢) حيث يعتمد الانتشار فى اتجاه واحد one dimension باستعمال

جيل الآجار المعبأ بالأنابيب . حيث يخلط المصل بكمية من الآجار توضع فى قاع الانبوبة ثم يضاف معلق الانتيجين إما على صورة محلول أو مخلوط بجيل الآجار . ومن مميزات هذه الطريقة أن تركيز المصل المضاد يكون ثابتا فى الأنبوبة ، أما إذا اريد مقارنة التركيزات المختلفة يتبع ذلك فى عدة أنابيب كما أنه يمكن التعرف على الانتيجين بغض النظر عن تركيزه على أساس كثافة المنطقة الترسيبية المتكونة والتى تتمثل فى تركيز الأجسام المضادة وبهذه الطريقة يمكن التعرف على الانتيجين المتواجد فى مخلوط من المواد الأخرى .

الا أنه يؤخذ على هذه الطريقة أنه قد تتكون مناطق ترسيبية غير حقيقية ومؤقتة نتيجة للتغيرات الطفيفة فى درجة الحرارة . وقد عدلت هذه الطريقة للتخلص من العيب المذكور بواسطة Oakley and Fulthrope (١٩٥٦) حيث يفصل الانتيجين عن الأجسام المضادة بمنطقة من جيل الآجار تسمح بانتشارهما .

وقد أوجد Oucherlony (١٩٥٢) طريقة يحدث فيها الانتشار فى جيل الآجار فى اتجاهين two dimensions بدلا من اتجاه واحد . وفى هذه الطريقة يوضع جيل الآجار فى أطباق بترى ويعمل به عدة حفر wells يوضع بها الانتيجين أو السيرم المضاد . وبانتشار هذه المواد فى الآجار يمكنها أن تتفاعل عند التركيزات المناسبة لكل منها at equivalence حيث تتكون الرواسب وباجراء التنظيم المناسب للحفر المحتوية على الانتيجين حول الحفرة المحتوية على السيرم المضاد فانه يمكن اختبار عدة عينات انتيجينية فى وقت واحد باستعمال تحضير واحد من المصل المضاد . ومن المميزات الرئيسية لهذه الطريقة سهولة التعرف على المخاليط المعقدة من المكونات التى تتفاعل تبادليا cross-reacting وذلك عند حدوث اختلاط لمناطقها الترسيبية .

وقد أوجدت طريقة ممتازة تعتبر تحويرا لطريقة الانتشار فى جيل الآجار

وتعرف باسم immunoelectrophoresis والتى أوجدها Garber and Williams (١٩٥٦) وقام poulik (١٩٥٩) بادخال بعض التعديلات عليها .

وفى هذه الطريقة تفصل مكونات المخاليط البروتينية أولا باتباع طريقة electrophoresis فى الجيل ثم يسمح لهذه المكونات بالانتشار فى وجود المصل المضاد المناسب .

الإتجاه الجزيئى والوراثى فى التقسيم

حيث أن المعلومات الوراثية فى خلية توجد فى الا DNA فإن القرابة بين كائنين يمكن إظهارها بالتقارب فى التركيب الكلى وكذلك فى تتابع قواعد البيريميدينات والبيورينات فى الا DNA . وفيما يلى وصفا مختصرا لأهم هذه الإتجاهات :

أ– **تركيب الـ DNA** : فى تركيب الشريط المزدوج من الا DNA نحدث أن نسبة الأدينين adenine (A) تساوى نسبة الثيمين thymine (T) وأن نسبة الجوانين guanine(G) تساوى نسبة السيتوزين Cytosine (C) . ومن المعروف أن نسبة الجوانين والسيتوزين C+G فى الDNA تعتبر صفة ثابتة للنوع البكتيرى وتتراوح بين ٢٢٪ لبعض أنواع الميكوبلازما إلى ٧٤٪ فى بعض البكتيريا .

ويلاحظ أنه يعبر عن نسب الأربع قواعد بنسبة الجوانين والسيتوزين G+C وهى تساوى.

$$\frac{\text{جزيئات الجوانين + جزيئات السيتوزين}}{\text{جزيئات الجوانين+جزيئات اليستوزين+جزيئات الأدنين+جزيئات الثيمين}} \times ١٠٠$$

والإختلافات فى تركيب القواعد له قيمة فى التقسيم فإن نسبة الجوانين

والسيتوزين فى حـــالة *E.coli* تساوى ٥٠٪ وفى حالة *B. subtilis* تساوى ٤٠٪ . ويلاحظ أن التشابه فى تركيب القواعد لايعنى بالضرورة علاقة بين الكائنين حيث أن ترتيب القواعد قد يختلف . فمثلا الإنسان لايمكن أن يكون قريب الصلة بالبكتريا *B. subtilis* حيث أن كلاهما نسبـــة الجوانين والسيتوزين تساوى ٤٠٪ .

ب ــ **التهجين فى الـ DNA** : عندما يسخن شريط مزدوج من الDNA فإن الشريطين المتكاملين ينفصلان وعند تحضين هذا الخليط من الشرائط المفردة لمدة من الزمن عند الحرارة المناسبة فإن الشرائط تتصاحب مرة أخرى لتكون شريط مزدوج مرة أخرى . وتكون خواصها متشابهة للشريط المزدوج الأصلى لجزئ ال DNAوحيث أن تفاعلات إعادة المصاحبة تحتاج إلى أن الشريطين المفردين من ال DNA يكون كل منهما مكمل للآخر لإعادة تكوين الحلزون المزدوج فإن نفس الطريقة يمكن أن تستعمل لبيان التشابه بين ترتيب القواعد فى ال DNAمن كائنين قريبين فى هذه الحالة فإن الشريط المفرد من الDNAمن كائنين مختلفين يحضنان معا . فإذا كان الكائنين متقاربين فإن تتابع القواعد الآزوتية فى الDNAسوف يكون متماثل وإن الشرائط المفردة سوف تتصاحب لتكون جزئ ذو شريط مزدوج .

جـ ــ **الإتجاه الوراثى فى التقسيم** : يحدث فى عمليات التحول الوراثى Transformation والإنتقال الوراثى Transduction والتزاوج Conjugation تبادل وراثى عن طريق إدخـــال قطعة من ال DNAمن الكائن المعطى إلى كروموسوم الكائن المستقبل وحيث أن هذا يستدعى أن ال DNA من الكائن المعطى والكائن المستقبل يكون كل منهما مكمل للآخر . فإن كفاءة عملية النقل الوراثى تقاس بالقرابة الوراثية .

المراجع

Cohn, M. 1952. in «Methods in medical research» p. 271 & 301. Year Book publisher, Chicago, Illinois.

Committee on bacteriological technique, Society of American Bacteriologists. Manual of Microbiological Methods. McGraw Hill Book Co. Inc. NY. 1957.

Deutsch, H.F 1952. in «Methods in medical research » p. 284 year Book Publishers, Chicago. Illinois.

Kekwich. R. A. 1940. Biochem. J. 34 : 1248.

Nester, E.W., E. Roberts, N. N. Pearsall and B. J. Mc Carty. 1978. Microbiclogy. Secand Edition. Hclt, Rinehart and Winston . New York.

Oakley, C. L. and A. J. Fulthrope. 1953 J. Pathol-Bacteriol.65 : 49.

Oudin, J. 1952. in «Methods in medical research» p. 335. Year Book Publishers, Chicago, Illinois.

Poulik, M. D. 1959. J. Immunol. 82 : 502

Schaub, Isbelle G., M. Kathreen Foley, Elvyn G. Scott. and W. Robert Bailey. 1958. «Diagnostic Bacteriology.» 5th ed. The C. V. Mosby Company. St. Louis.

Williams, C. A. and P. Garber, 1956. J. Immunol. 74 : 158.

الفصل الثانى

تقسيم البكتيريا

Taxonomy Of Bacteria

بالرغم من أن تسمية وتصنيف البكتيريا تعتبر من الفروع الهامة فى البكتيريولوجيا . الا أنها لاتجذب الكثير من المشتغلين بهذا العلم . وعلم التقسيم عموما هو عبارة عن ذلك الفرع من علوم الحياة الذى يختص باطلاق الاسماء على النباتات أو الحيوانات أو غيرها من الكائنات الحية وتنظيمها فى مجاميع تبعا للعلاقات الطبيعية المتواجدة بينها . وفى الدراسات البيولوجية لايمكن الفصل بين التسمية nomencalature والتصنيف classification حيث يعتمد كل منهما على الآخر اعتمادا كليا . فمثلا إذا أطلق اسم غير مناسب على كائن بكتيرى فانه يصعب تصنيفه ووضعه فى مكانه الطبيعى بين البكتيريات الأخرى والعكس يكون صحيحا .

اذن فالهدف من التسمية هو اختيار الاسم المناسب لكائن معين للشروط المصطلح عليها والهدف من التصنيف هو ترتيب الكائنات المسماه فى مجاميع . بطريقة تبين التشابه الطبيعى بين أفراد المجموعة وتوضح الاختلافات بينها وبين المجاميع الأخرى ، من ذلك نرى أن التقسيم taxonomy يشمل عمليتين الأولى هى التسمية nomenclature والثانية هى التصنيف cla·sification

والصعوبات التى أخرت تقسيم البكتيريات تتمثل فيما يلى :

١ ــ تعدد فروع البكتيريولوجيا حيث كان لكل فرع أثره على طرق التسمية والتصنيف .

٢ ــ صعوبة جمع عينات من البكتيريا والاحتفاظ بها بحالتها الطبيعية لمدة طويلة دون أن يطرأ عليها تغييرات ، الأمر الذى لايحدث بعينات النبات والحيوان .

٣ — تعدد تسمية البكتيريات ووجود أسماء محلية للميكروب الواحد تختلف باختلاف المناطق .

٤ — سرعة تكاثر البكتيريا بدرجة تجعلها أكثر عرضة للتصنيفات والتغيرات variations .

تسمية البكتيريا :

إن التاريخ القديم يبين محاولة العلماء لتسمية الكائنات الحية فقد قام ارسطو Arstotle ٣٨٤ — ٣٢٢ قبل الميلاد بجمع نباتات عديدة مختلفة محاولا تسميتها وتقسيمها وتبعه فى ذلك عدة محاولات إلى أن جاء العالم السويدى Carl vcn Linne ١٧٥٣ بوضع نظام التسمية المزدوج Binomial system لتسمية النباتات ، وقام بنشر مرجعين هامين هما Systema natura و Species plantarun . ثم أقتبس هذا النظام فيما بعد لتسمية الحيوانات والكائنات الدقيقة ، ولا زال مستعملا إلى الآن . وجاء بعد Linne علماء آخرون حاولوا تعديل طريقته فى التسمية بأن أضافوا أسماء أخرى للاسم المزدوج ولكنها لم تقابل بنجاح كبير لاتصافها بالتعقيد .

ولما كانت البكتيريا تمتلك صفات كل من النباتات والحيوانات ، الأمر الذى أدى إلى ارتباك العلماء فى اتباع الكود النباتى (القوانين واللوائح الخاصة بتسمية وتقسيم النباتات) أو اتباع الكود الحيوانى لتسمية وتقسيم البكتيريا. وفى عام ١٩٠٣ اصطلح على اتباع الكود النباتى للتسمية وتقسيم البكتيريا . وفى عام١٩٤٧انشىءأول كود بكتيريولوجى Internationl bacteriological code أثناء انعقاد الجمعية الميكروبيولوجية الدولية فى كوبنهاجن بالدنمرك .

الأسماء العلمية : Scientific names

لكل كائن حى نوعان من الأسماء ، اسماء دارجه common أو vernical أو trival وهذه الأسماء الدارجة تختلف من مكان لآخر فمثلا البكتيريا التى

تسبب مرض التيفود يشار إليها باللغة الانجليزيةTyphoid bacillus وبالألمانية Typhus bazillen وبالفرنسية Bacille typhique . وتستعمل هذه الأسماء الدارجة وهى ذات طابع محلى عادة لغرض التبسيط بدلا من استعمال الأسماء العلمية المعقدة والطويلة .

والنوع الآخر من التسمية هو التسمية العلميــة Scientific names أو Collequial names وهى الأسماء ذات الطابع الدولى يستعملها العلماء جميعا مهما اختلفت لغاتهم . وتكوين هذا النوع من الأسماء يراعى فيه نظام معين متفق عليه دوليا طبقا للمبادىء والقوانين التى جاءت بالكود البكتيريولوجى المقترح عام ١٩٤٧. ويشمل هذا الكود مجموعة من اللوائح والتوصيات التى تشبه كثيرا تلك الخاصة بالكود النباتى الا أنها تختلف عنه فى بعض التفاصيل . ومن الأساسيات العامة فى تسمية البكتيريا علميا ما يلى :

١ — البكتيريات المتشابهة والمتطابقة تماما تكون مايسمى بالنوع species.

٢ — تبعا لنظام التسمية المزدوج binomial فان كل نوع بكتيرى يطلق عليه اسم مكون من كلمتين كل منهما يجب أن تكون لاتينية أو يونانية الأصل وإن لم تكن كذلك يجب أن تعامل معاملة لاتينية أو يونانية .

ويكتب عادة أول حرف من الكلمة الأولى وهى التى تشير إلى اسم الجنس genus بالحرف الكبيرة capital letter ، وقد يكون اسم الجنس المستعمل ،مذكرا أو مؤنثا أو (محايداً neuter) . فمثلاالاسم *Lactobacillus* لاتينى الأصل (مذكرا) والاسم *Sarcina* لاتينى الأصل (مؤنثا)و *Bacillus* لاتينى الأصل مذكرا و *Micrococcus* يونانى الأصل (مذكرا) و *Corynebacterium* يونانى الأصل(محايدا)و *Clostridium* يونانى الأصل (محايدا) و *Actinomyces* يونانى الأصل (مذكرا) .

وبعض أسماء الأجناس قد تكون اسماء لبعض الأشخاص تخليدا لذكراهم

وفى هذه الحالة يجب أن يعامل الاسم معاملة لاتينية مثل *Pasteurella* (تخليدا لذكرى باستير) و *Erwrinia* (تخليدا لذكرى Erwin F.Smith) و *Neisseria* (تخليدا لذكرى A. Neisser):

والكلمة الثانية فى الاسم العلمى تشير إلى النوع البكتيرى وتعرف بالـ Specific epithet وهذه لايكون حرفها الأول كبيرا ((capital) الاأنها عادة تكون :

(ا) صفة تتأثر بالاسم السابق لها فى درجته بمعنى أنها تتبعه فى الدرجة *gender* كما يلى *Sarcina alba* و *Bacillus albu* (مذكر) و *Bacterium album* (محايد).

(ب) صفة فى صورة فعل مضارع (present participle)

Clostridium dissolves	أى	dissollving Clostridium
Bacillus adherns	أى	adhering bacillus

يلاحظ أن نهاية الكلمة تكون موحدة فى كل الدرجات .

(جـ) تكون الكلمة الثانية المكونة للاسم العلمى عبارة عن اسم يعطى معنى التملك للاسم السابق له :

Salmonella pollorum	أى	Salmonella of chicks
Clostridium wlechii	أى	Welch 's closbridium
Streptococcus lactis	أى	Strep. of milk

(د) أن يكون اسما للتوضيح بمعنى أنه يوضح طبيعة الاسم السابق له وليس هناك مايدعو لأن يتبع لاسم السابق فى الدرجة :

Actinomyces scabies	أى	Scab actinomyces
Bacillus racidicola	أى	rootdweller bacillus

ويمكن اضافة كلمة ثالثة إلى الاسم العلمى الثنائى ليشير إلى مؤلف الاسم الثنائى ، وليس للاشارة إلى مكتشف الميكروب كما قد يعتقد البعض . مثل *Bacillus subtilis Cohn.* أو Bacillus coagulans Hammer .

وأحيانا نشاهد أكثر من كلمة واحدة عقب الاسم العلمى الثنائى تكون الأولى منها بين قوسين كما يلى :

Staphylococcus aureus (Rosenbach) Winslow & Rogers

وهذا يعنى أن Rosenbach هو أول من سمى هذا الميكروب وأعطاه الاسم النوعى specific epithet ولكن كان قد وضعه تحت جنس آخر إلا أن Winslow & Rogers هما اللذان وضعا هذا النوع تحت الجنس *Staphylococcus*.

أحيانا يقسم النوع إلى أصناف أو سلالات varieties or strains وهذا يحدث عندما تتواجد اختلافات بسيطة بين أفراد النوع لاتكفى لوضعها فى نوع مستقل . فمثلا سلالة البكتيريا *Streptococcus Lactis* التى يعطى اللبن طعم الشعير تعرف بالاسم *Stept.lactis* var. *maltigenes*

تقسيم البكتيريا Classification of Bacteria

قبل أن ندرس تقسيم البكتيريا يجب أن نلم بمدلول بعض المصطلحات المستعملة فى الدراسات التقسيمية فمثلا :

النوع : Species

هى مجموعة تشمل كل البكتيريات المتشابهة فى كل صفاتها . ويترك لخبرة الباحث تحديد الاختلافات التى قد تميز بين نوعين مختلفين حيث لايوجد أى مبدأ قياسى فى هذا الصدد .

وقد عرف Hitchocock (١٩٢٥) النوع النباتى بأنه الوحدة التقسيمية

التى تتكون من مجموعة من النباتات المتشابهة . وحيث أن النوع هو اعتبار تقسيمى محض فانه من الصعب تعريفه وتحديده . هذا وقد قرر كثير من العلماء بأن الصفات التى يمكن تقسيم النوع على أساسها يجب أن تكون صفات ثابتة وغير متغيرة .

الجنس : Genus

هى مجموعة تشمل الأنواع التى تتميز بصفات ثابته وغير متغيرة ، ويجب أن يكون هناك علاقة بين هذه الصفات بمعنى أن تجميع عدة أنواع تحت جنس واحد يجب أن يتم طبقا للتشابه فى الصفات الطبيعية الثابتة التى ترجع إلى تطابق التركيب الوراثى للأنواع . وهناك عدة صعوبات لتصنيف الأنواع أهمها أن معظم الأنواع ليست مدروسة دراسة وافية . بدرجة تسمح بالتفرقة بين صفاتها الثابتة والأخرى التى تتغير طبقا للظروف البيئية علاوة على الصعوبة التى تتمثل فى تعدد الأسماء الدراجة والمحلية للنوع البكتيرى الواحد . وللتغلب على تلك الصعوبات يتحتم على مكتشفى الأنواع الجديدة أن يبحثوا وينقبوا فى المراجع البكتيريولوجية للتأكد من أن النوع الجديد المكتشف لم يوصف من قبل . فاذا كان الأمر كذلك كان عليهم القيام بوصفه وصفا دقيقا .

وقد يكون الجنس وحيد النوع بمعنى أنه يشمل نوعا بكتيريا واحدا monotypic أو أن يحتوى الجنس على عدة أنواع .

العائلة : Family

هى مجموعة من الأجناس المتشابهة أو المتقاربة . وعادة يشتق اسم العائلة من اسم الجنس المثالى لها type genus مع اضافة المقطع aceae فمثلا *Bacillaceae* سميت تبعا لجنسها المثالى *Bacillus* و *Actinomycetaceae* سميت تبعا لجنسها المثالى *Actinomyces* و *Spirochaetaceae* سميت تبعا لجنسها المثالى *Spirochaeta*.

الرتبة : Order

مجموعة من العائلات المتشابهة أو المتقاربة ويشتق اسم الرتبة من اسم العائلة المثالية family type مع استبدال المقطع aceae بالمقطع (ales)
Actinomycetales و *Spirochaetales*

وهناك بعض المجاميع الفرعية مثل تحت الرتبة suborder أو النصيلة tribe والأولى تقسم إلى عائلات فى حين أن الثانية تقسم إلى أجناس .

الصف : Class

هو مجموعة من الرتب المتشابهة .

وتبعا للطبعة الأخيرة ١٩٧٤ من المرجع Bergey' s Manual فإن الكائنات ذات النواه البدائية فيها البكتيريا ضمت فى مملكة قائمة بذاتها تعرف بمملكة البروكاريوتات Kingdom *Procaryotae*

وقد وصفت البكتيريات فى ١٩ جزء تبعا لصفاتها الهامة وفيما يلى تقسيم هذه المملكة إلى صفوف وعدد ورقم الأجزاء التى يشملها كل صف.

Kingdom *Procaryotae*

Division I : Phototrophic procaryotes (photobacteria)

Class I : Blue green photobacteria

Class II : Red photobacteria
ClassIII: Green photobacteria
تمثل الجزء الأول

Divislan I I : Procaryotes indifferent to light (scotobacteria)

Class I : The bacteria — تمثل الاجزاء من ٢ — ١٧

ClassII : Obligate intracellular Scotobacteria in eucaryotic cells (Rickettsias)

تمثل الجزء ١٨

Class III: Scotobacteria withut cell walls
(Mollicutes) — تمثل الجزء ١٩

الجزء الأول

البكتيريا الممثلة للضوء The phototı ophic bacteria

الرتبة Rhodospirillales

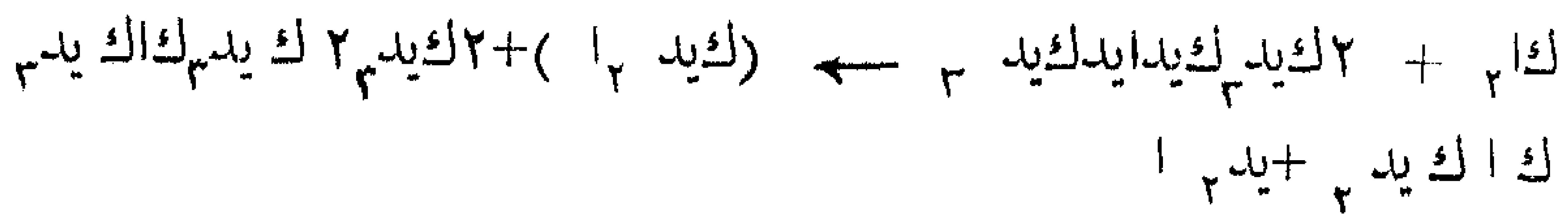
بكتيريا ممثلة للضوء . الخلايا كروية أو عصوية أو ضمية أوحلزونية. قطر الخليه المفردة من ٣ر إلى أكثر من ٦ µm . فى معظم الأحيان.التكاثر عن طريق الأنفلاق العرضى . بعض الأنواع تتكاثر عن طريق التبرعم . سالبةلجرام .لون معلق الخلايا ، بنفسجى—قرمزى ، قرمزى أحمر ، برتقالى— بنى ، بنى أخضر . قد تحتوى على حبيبات كبريت . يوجد بالخلايا كلوروفيل بكتيرى (bacteriochloro phyll a, b, c, d,) وصبغات كاروتينية مثــل ليكوبين‌ورودوبين و spirilloxanthin وليكوبينول وكلوروباكتين .

ويختلف التمثيل الضوئى فى البكتيريا عن النبات فى أنه يحدث تحت ظروف غير هوائية ، ولا ينتج‌الأكسجين ، ويعتمد على وجود معطيات للإلكترونات مثل مركبات الكبريت المختزلة أو الإيدروجين الجزيئى أو مركبات عضوية . قد تثبت بعض الأنواع النيتروجين . توجد الصبغات فى نظام غشائى داخلى متصل بالغشاء السيتوبلازمى أو فى حويصلات vesicles كما فى حالة الجنس *Chrorcbium* وهذه الحويصلات تكون متصله بالغشاء السيتوبلازمى .

عائلة ١ : Family *Rhodospirillaceae*

تشمل مجموعة من البكتيريا تسمى البكتيريا القرمزية غير الكبريتية purple nonsulfur bacteria . الخلايا كروية أو عصوية أو ضمية أو حلزونية . التكاثر عن طريق الإنفلاق العرضى أو التبرعم ، الخلايا متحركة بأسواط طرفية أو محيطية . توجد الصبغات فى نظام غشائى داخلى متصل بالغشاء

السيتوبلازمى . الأجناس المعروفة لاتحتوى على فجوات غازية . عادة تتطلب ضغط من الأكسجين : بعض الأنواع قدتنمو عند وجود ضغط الأكسجين الجوى فى الضوء أو فى الظلام . فى حالة السلالات التى تنمو تحت ظروف الأكسجين المنخفض أو الظروف الهوائية فإن تكوين الصبغات الضوئية وكذلك الأغشية الداخلية يقل بإنخفاض تركيز الأكسجين تحت تركيزات معينة . قد يكون النمو العادى ممكنا تحت ظروف غير هوائية تماما عند توفر الضوء إلا أنه لوحظ نمو بطىء جدا فى الظــلام . معظم الأنواع غير قادرة على النمو على الكبريتيد كمعطى للإلكترونات فى التمثيل الضوئى . ويجب توفر مواد عضوية بسيطة تعمل كمعطيات للإيدروجين لتمثيل ثانى أكسيد الكربون . فمثلا البكتيريا *Rhodopseudomonas* تستعمل كحول الأيزوبروبايل كمعطى للإيدروجين ويتكون الأسيتون كما فى المعادلة التالية



معظم الأنواع تحتاج إلى واحد أو أكثر من الفيتامينات كعوامل نمو وبعض الأنواع لاتحتاج إلى عوامل نمو . وجد أن بعض السلالات تثبت النيتروجين الجوى .

تحتوى على صبغات ضوئية ، كلوروفيل بكتيرى a أو b ومجموعة من الـ Carotenoids .

توجد الأنواع التابعة لهذه العائلة فى المياه الراكدة والطين المعرض للضوء والبحيرات .

الأجناس التى تتبع هذه العائلة :

Rhodomnicerobliem, و(شكل ١٣٠) *Rhodospirillum* و *Rhodopseudomona*



شكل ١٣٠ : خلايا البكتيريا *Rhodospirillum rubrum* لاحظ أن الأسواط على أحد أو كلا الطرفين . نادرا ماتحتوى الأسواط على أكثر من انحناءة واحدة .

العائلة ٢ : Family *Chromatiaceae*

تشمل بكتيريات الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria . الخلايا كروية أو بيضاوية أو عصوية أو ضمية أو حلزونية . متحركة أو غير متحركة . توجد أو لا توجد فجوات غازية . الخلايا تحتوى على كلورفيل a أو b وكاروتينات مختلفة . توجد الصبغات الضوئية فى نظام من أغشية متصلة بالغشاء السيتوبلازمى . الخلايا قادرة على النمو فى وجود الكبريتيد أو الكبريت كمعطى وحيد للإلكترونات . فى وجود الكبريتيد فإنه تتكون حبيبات كبريت داخل الخلايا . فى جنس واحد فقط يترسب الكبريت خارج الخلايا وهو الجنس *Ectothiorodospira*

لكا$_{٢}$ + ٢يد$_{٢}$ كب ← (لكيد$_{٢}$ ا) + ٢ كب ↓ +يد$_{٢}$ ا

٣لكا$_{٢}$ + ٢كب + ٥يد$_{٢}$ ا ← ٣ (لكيد$_{٢}$ ا) + ٢يد$_{٢}$ كبا$_{٤}$

الأنوع المتحركة لها أسواط طرفية . الحركة البطيئة جدا لمجاميع

الخلايا تظهر فى الطرز التى تحتوى على فجوات غازية . معظم الأنواع غير هوائية إجبارا .

معظم الأنواع تستطيع إستعمال مواد عضوية فى غيـاب كبرتيد الإيدروجين أو الكبريت ولذلك فكل الطرز تعتبر مختلطة التغذية. بعض الأنواع تثبت النيتروجين الجزيئى . بعض الأنواع تحتاج إلى فيتامين ب ١٢ .

فى الطبيعة توجد أفراد العائلة فى البيئات المائية غير الهوائية والتى تحتوى على كبريتيد .

ويوجد عدد من الأجناس تتبع هذه العائلة وهى :

Theosarcina و *Thiocystis* و *chromatium* و *Lamprocystis* و

Thiocapsa و *Thiospirillum* و *Thiopedia* و

Thiodictyaon و *Ectothiorhodospira* و *Amoebobacter* و

العائلة ٣ : Family *Chlorobiaceue*

وتشمل هذه العائلة بكتيريا الكبريت الخضراء **green sulfur bacteria**. الخلايا تحتوى على كلوروفيل بكتيرى C أو D أوكاروتينات مختلفة مع كميات صغيرة من كلوروفيل a . الصبغات الضوئية توجد فى حويصلات والتى تقع تحت الغشاء السيتوبلازمى وتكون متصلة بالغشاء السيتوبلازمى . التكاثر بالإنغلاق غالبا . فى جنس واحد *Chloropseudomonas* فإن الخلايا متحركة بأسواط طرفية والأجناس الأخرى غير متحركة. الأجناس قد تحتوى أو لا تحتوى على فجوات غازية .

وتعتمد على ظروف المزرعة أو الظروف البيئية فإن معظم الأنواع تكون قادرة على التكشف إما إلى خلايا فردية أو كتل من خلايا لها أشكال مختلفة

مع وجود هلام بدرجات متفاوتة . فى وجود الكبريتيد فإن الكبريت يترسب خارج الخلايا ولا يوجد مطلقا داخل الخلايا .

كأ٢ + ٢يد٢ كب ——→ (كيد٢ ا) + ٢ كب ↓ + يد٢ ا

المزارع تكون خضراء أو بنية . كثير من السلالات تحتاج فيتامين ب١٢ للنمو . كل الطرز غير هوائية . كثير من المركبات العضوية تمثل ضوئيا فى وجود يد٢كب و كا٢ مثل الخلات ولذلك هذه العائلة تعتبر مختلطة التغذية . عدد من السلالات تثبت الآزوت الجوى .

والعائلة تشتمل على عدد من الأجناس هى :

Prosthecochloris و *Chlorobium* و *Pelodictyon* و
Chloropseudomonas و *Clathrochloris* و

الجزء الثانى

البكتيريا الزاحفة The Gliding bacteria

وتتميز هذه المجموعة من البكتيريا بالحركة الزحفية التى تقوم بها الخلايا وتقسم إلى رتبتين Order Cytophagales و Order **Myxobacterales**

الرتبة الأولى: Order *Myxobacterales*

وهى تشمل البكتيريات الهلامية التى تكون ثمار The fruiting Myxobacteria. عصويات وحيدة الخلية um. ٥ر١ > فى القطر . عادة تكون مطمورة فى فى طبقة من الهلام slime . الخلايا العصوية قد تكون إسطوانية مع وجود الأطراف المستديرة أو قد تكون النهايات مستدقة لحد ما . التكاثر عن طريق الإنفلاق العرضى . قادرة على الحركة الزحفية البطيئة عند ملامستها لسطح صلب وتفتقر لأعضاء الحركة . سالبة لجرام . تحت الظروف المناسبة فإن الخلايا تتجمع لتكون أجساما ثمريه تتكون من الهلام والخلايا تكون غالبا ذات ألوان زاهية وتظهر بالعين المجردة . الخلايا فى داخل الأجسام الثمرية تصبح

خلايا ساكنة وتسمى myxospores . فى بعض الأجناس فإن هذه الجراثيم لاتميز بسهولة عن الخلايا الخضرية وفى أجناس أخرى تكون أكثر كثافة ضوئية أو لامعة .ومحاطة بغلاف وتكون أقصر فى الطول أو كرويات وتسمى حويصلات microcysts . الأجسام الثمرية قد تتكون ببساطة من كتل من الهلام والخلايا أو أن الـ myxospores قد تكون موجودة داخل أكياس جرثومية sporangiaلها أشكال مميزة وقد تكون مرتفعة عن الوسط التى تنمو فيه على حوامل بسيطةأو متفرعة . من الوجهةالغذائية تعتبر Chemc organotrphs هوائية إجبارا . الحصول على الطاقة بطريقة تنفسية ولاتكون بطريقة تخمرية. الأنواع قادرة على إنتاج الإنزيمات التى تحلل الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والأحماض النووية وإسترات الأحماض الدهنية وعديدات التسكرومنها السليلوز . بعض منها قادرة على تحليل الكائنات الدقيقة . لاتحتوى على صبغات للتمثيل الضوئى ولكنها تحتوى على أصباغ كاروتينية وصبغات ميلانين .

معظم الأنواع توجد فى التربة وقد تتكشف على المواد النباتية المتحلله وقلف الأشجار الحية أو السماد الحيوانى .وجودها فى الطبيعة أو المعمل يكتشف عن طريق ظهور الأجسام الثمرية . يوجد نوع واحد ذو طبيعة مائية . معظم الأنواع تفشل فى النمو على البيئات العادية .

الخلايا الخضرية تميز عن غيرها من الخلايا البكتيرية عن طريق الحركة الإنزلاقية وغالبا عن طريق إلتوائها ومرونتها إلا إنها لاتختلف كيماويا أو فى التركيب الدقيق عن الخلايا البكتيرية السالبة لجرام . وتميل الخلايا لأن تتحلل ذاتيا لتكون بروتوبلاست كروى تحت ظروف غير الهوائية أو الزرع فى بيئة مرتفعة الحرارة أو فى المزارع القديمة أو فى وجود بعض الكاتيونات .

فى العادة تصبغ بقلة بالطرق العادية وتتشوه بالتثبيت الحرارى . ولذلك فأفضل طريقه لدراسة الخلايا الخضرية بإستعمال مجهر الأطوار المتباينة . وتتواجد الخلايا المتحركة فى مجاميع من ٢ — ٣ خلايا متجاورة جنبا لجنب.

وأحيانا تتواجد فى مجاميع تحتوى على مئات من الخلايا وهذه المجموعة مـــن الخلايا يمكنها ان تتحرك معا كوحدة واحدة فى حركة زحفية بعيدا من مركز المستعمرة وتترك هذه الكتلة المتحركة طبقة من المواد الهلامية على خط سيرها .

وتقسم هذه الرتبة إلى ٤ عائلات كالآتى :-

١ — الخلاياالخضرية مستدقة الأطراف وتكون حويصلات microcysts

ا — microcysts كروية أو بيضاوية

Family I *Myxococcaceae*

ب—الـ microcysts عصويات

ب١ —لاتوجد microcysts فى أكياس جرثومية

Family I I *Archangiaceae*

ب٢ - توجد الـmicrocystsفى أكياس جرثومية

Fanilg I I I *Cystobacteraceae*

٢ — الخلايا الخضرية لها أقطار متماثلة وأطرافها مستديرة .الـ Myxospores تشبه الخلايا الخضرية . Family IV *Polyangiaceae*

عائلة —*Myxococcaceae*

خلايا خضراء عصوية الشكل (شكل ١٣١)تتحوت الى خلايامستريحةقصيرة عن طريق تكون الأجسام الثمرية ، حيث تتحو ل الى أجسام صغيرة بيضية أوكروية . microcyts

وعند إنبات الحويصلات الصغيرة تتكون خلايا خضريه بطريقة تشبه التبرعم تخرج تاركة جدار الجرثومة أوالحويصلة فارغا . . تتكون أجسام ثمرية مميزة فى ثلا ثة من أجناسها الا أنه فى جنس Spovocytophaga تتكو ن الجراثيم (الحويصلات) مفردة بدون أجسام ثمرية . وتشمل هذه العائلة الجنس التالى :



شكل ١٣١ : خلايا خضرية vegetative swarmers
تشاهد مرتبة فى خطوط متوازية بالطريقة التى تتحرك بها حول مركز تجمعاتها . الخلايا
بالصورة مصبوغة بصبغة Giemsa لتظهر التركيبات النووية .

جنس — *Myxococcus*

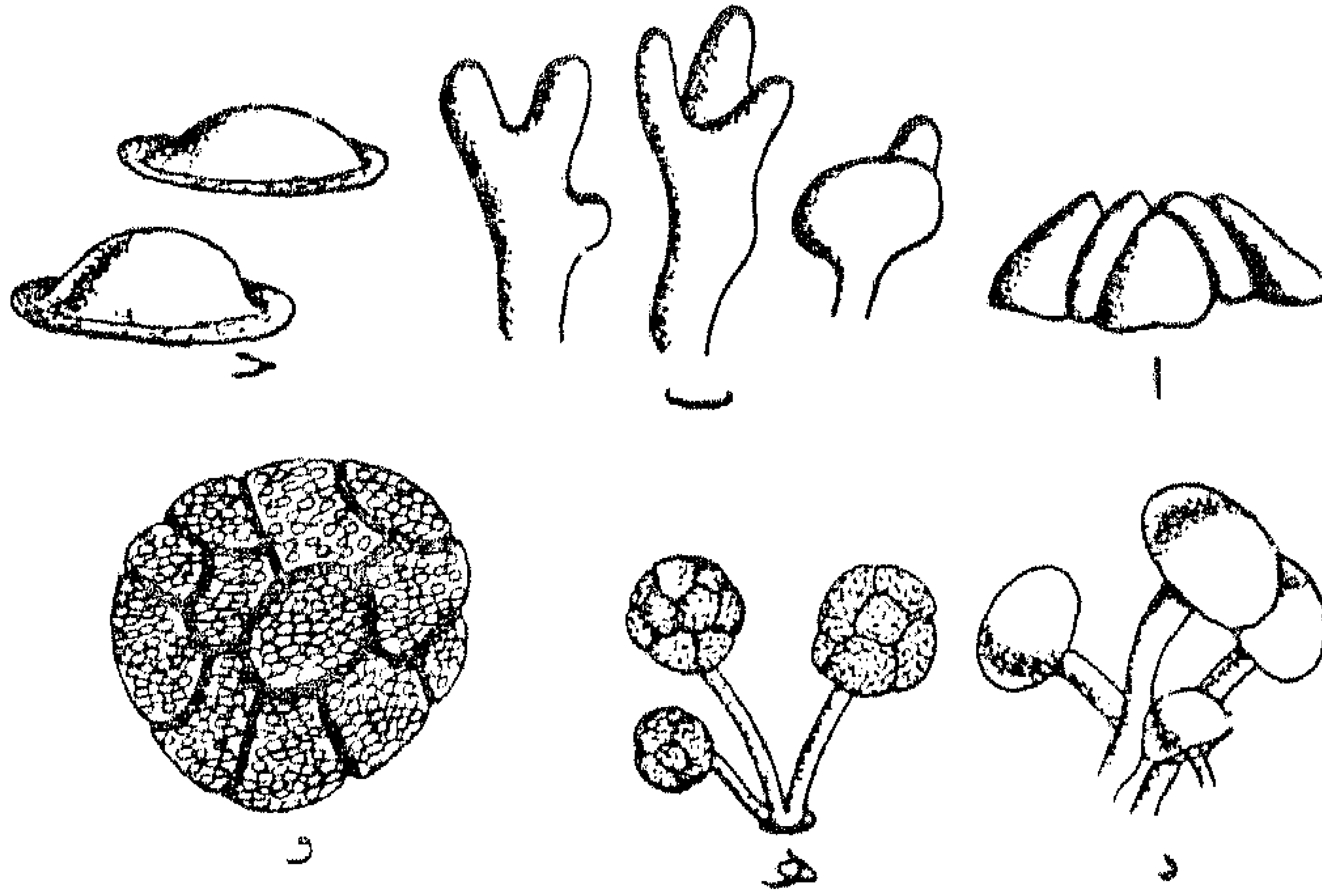
تتكون حويصلاته بداخل أجسام ثمرية قمعية أو دائرية بيضية الشكل قائمة على سطح البيئة (شكل ١٦٨ — ا) تلتحم ببعضها عن طريق مواد هلامية لزجة . النوع المثالى *Myxococcus Flavus*

عائلة — *Archangiaceae*

تتميز هذه العائلة بتكوين أجسام ثمرية غير منتظمة ومنتفخة (شكل ١٣٢ — ب) كما أنها تكون عمودية على البيئة النامية عليها بحيث تبدو بشكل الأصابع . لايمكن تمييز جدرها كما أن خلاياها الخضرية تتميز بتكوين كتلة خلوية متحركة (pseudoplasmodium)

جنس — *Archangium*

تتميز أنواع هذا الجنس بأن خلاياها الخضرية العصوية التى تكون محاطة عادة بمادة هلامية ، يمكنها أن تكون أجساما ثمرية جالسة تتخذ شكلا قرصيا مستديرا وأحيانا أنبوبيا منتفخا . وقد تظهر تفرعات بشكل القرون (شكل ١٣٢ — ب ، ج) ومن الداخل يظهر الجسم الثمرى كالأمعاء الملتفة حول بعضها . وقد يكون الالتفاف منتظماً أو غير منتظم .



شكل ١٣٢ : رسم تخطيطى للأجسام الثمرية التى تكونها البكتيريات الزجة (ا) نوع بسيط يعرف باسم *Myxococcus* type (ب ، ج) نوع بسيط جالس أو معنق يعرف باسم *Chondrococcuc* type (د) نوع معنق ذو حويصلات بسيطة *Myxococcus* (هـ) نوع معنق ذو حوصلات مركبة *Sorangium* group. (و) جسم ثمرى جالس من النوع *Sorangium* يتكون من عدة حوصلات ثانوية والمحتوية على أعداد كبيرة من الحويصلات الصغيرة microcysts.

ويبدو ان الأجسام الثمرية ليست محاطة بجدار أو غشاء ولكنها تحاط بطبقة من الافرازات الهلامية اللزجة .

عائلة — *Polyangiaceae*

توجد الخلايا المستريحة بداخل حوصلات محددة التركيب وهذه توجد بداخل الأجسام الثمرية . والأجسام الثمرية تكون محاطة بجدار مميز يتكون نتيجة لتصلب الطبقة المجاورة من المواد الهلامية . وقد يتخذ الجدار ألوانا زاهية تتراوح بين الأصفر والأحمر المائل للون البنى . وتتحد الحوصلات ببعضها عن طريق غشاء هلامى واضح وهى بقايا المواد الهلامية التى أفرزتها الخلايا الخضرية قبل تكوين الحوصلات وقد تتكون الحوصلات مفردة أو متجمعة على حامل واحد . وفى الأنواع الأكثر رقياً يتفرع الحامل وتحمل الحوصلات على تفرعاته . :

جنس — *Polyangium*

الحوصلات مستديرة . جالسة . تتكون منها أعداد كبيرة . تتواجد مفككة عن بعضها أو ملتحمة ومحاطة بغشاء هلامى .

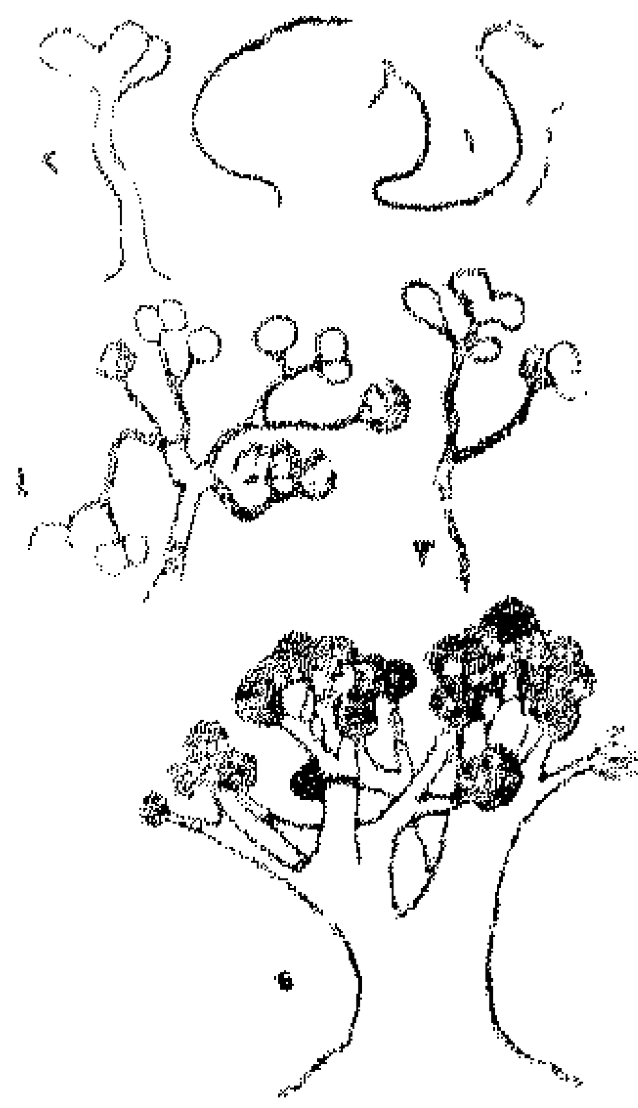
جنس — *Chondromyces*

الحوصلات مستديرة أو بيضية أو مدببة تحمل عددا عنها على الحوامل التى قد تكون متفرعة (شكل ١٣٣)

الرتبة الثانية Oreder *Cytophagales*

الخلايا عصوية أو خيوط وقد توجد Hormogonium أو خلايا ساكنه — لاتنتج أجساما ثمرية . الحركة زحفية على الأقل فى مرحلة مرفولوجية واحدة . سالبة لجرام . التغذية Chemolithotrophs أو Chemoorganotrophs





شكل ١٣٣ : (ا) رسم تخطيطى - يبين خطوات تكون الأجسام الثمرية (cystophores) فى البكتيريا اللزجة *Chondromyces crocalus* (ب) صور فوتوغرافية لنفس الخطوات .

أو مختلطة التغذية .كل الكائنات التى وضعت فى هذه الرتبة لها صفة واحدة مشتركة وهى الحركة الزحفية على السطوح الصلبة .

تشمل هذه الرتبة عدة عائلات منها

عائلة — Family *Cytophagaceae* :

تتميز هذه العائلة عن العائلات الأخرى فى أنها لا تكون خلايا مستريحة resting cells أو أجساما ثمرية . أفرادها خلايا مرنة مدببة الأطراف تتحرك حركة زحفية وتحتوى العائلة على جنس واحد وهو :

Cytophaga تتصف أنواعه بصفات العائلة .

عائلة — *Beggiatoaceae*

تتواجد خلاياها باستمرار فى خيوط trichomes لايمكن مشاهدة الخلايا المكونة للخيط إلا عقب صبغها تشبه كثيرا أفراد عائلة *Oscillaiorieceae* التابعة للطحالب الخضراء المزرقة فيما عدا غياب الكلوروفيل والبايكوسيانين. عندما تنمو فى وجود (يد ٢ كب) فان الخلايا المكونة للخيوط تكون محتوية على حبيبات كبريت . لاتكون أعضاء تكاثر معينة . وأفراد هذه العائلة تعرف ببكتيريا الكبريت الخيطية عديمة اللون coloreless filamentous sulfu bacteria وتشمل هذه العائلة عدة أجناس هى

جنس — *Beggiatoa*

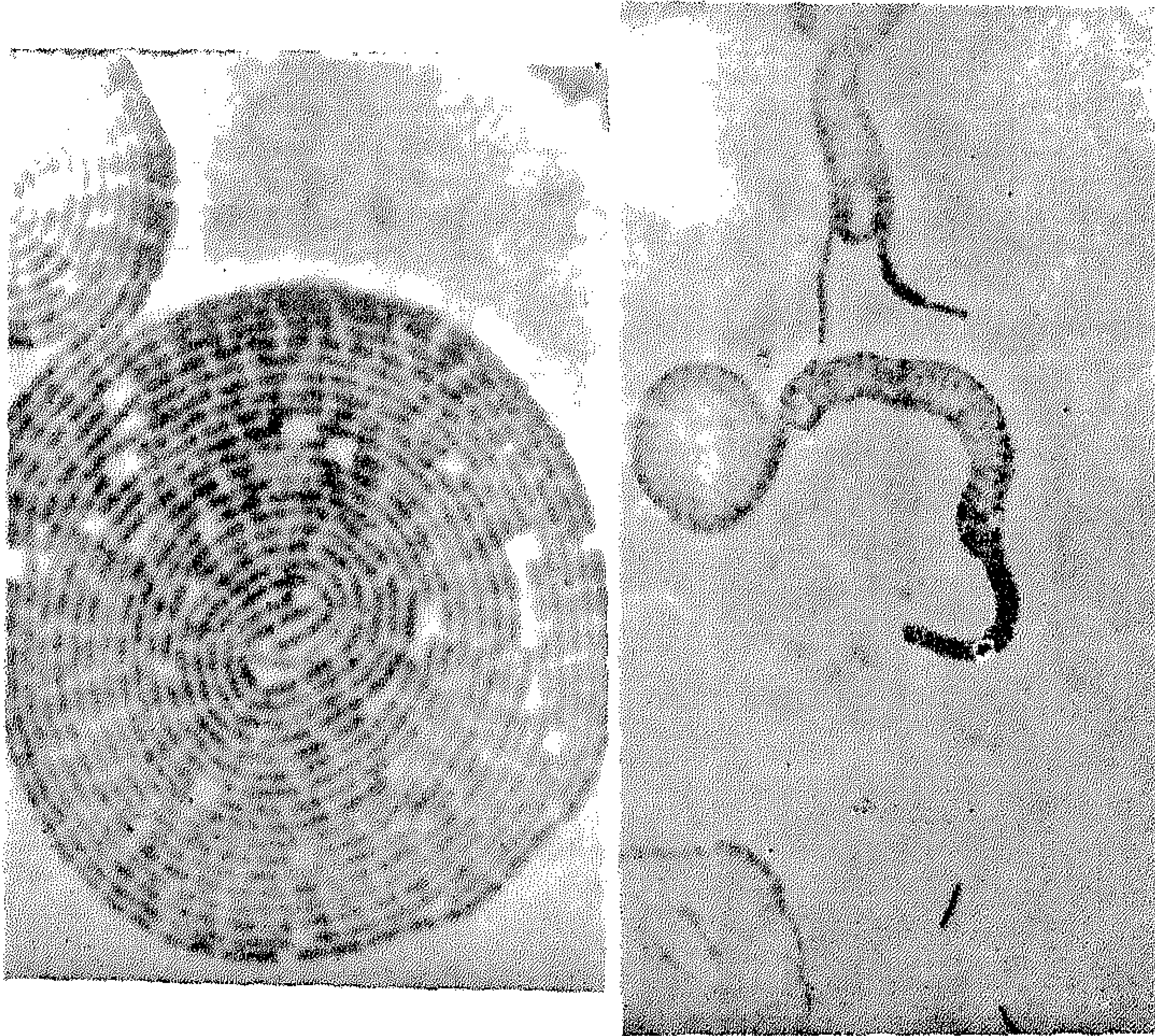
يشبه الطحالب الخضراء المزرقة التابعة لجنس *Oscillatoria* فى حركتها الزحفية على السطوح الصلبة . الخيوط لاتحاط بأغلفة . الخيوط مستقيمة غير منحنية وليست ملتفة على بعضها بصفة دائمة . تتواجد الخيوط مفردة أو فى مجاميع بيضاء قشدية اللون والتى يظل فيها الخيط محتفظا بوحدته . النوع المثالى *Beggiatoa albus* .

جنس *Vitreoscilla*

تشبه أفراد هذا الجنس أفراد الجنس السابقة فيما عدا غياب حبيبات الكبريت حيث تكون غائبة من الخلايا حتى لو نميت فى بيئة تحتوى على (يد ٢ كب) . ويبين (شكل ١٣٤) التركيب المورفولوجى لأفراد هذه العائلة.

جنس — *Thioploca*

خيوط مقسمة ذات قمة رفيعة تشبه أفراد جنس *Beggiatoa* ولكنها توجد فى حزم متوازية محاطة بغلاف لزج slimy sheath سميك مكون من مواد هلامية لزجة . وقد تتحرك الخيوط الفردية بداخل الغلاف اللزج السميك حركة زحفية . النوع المثالى *Thioploca schmidtei* .



شكل ١٣٤ : بكتيريا تتبع جنس *Vitreoscilla* الصورة اليمنى تبين التركيب الظاهرى للخلايا وكيفية تجمعاتها — اليسرى : تبين جزء من النمو بعد تكبيره .

عائلة — Faimly *Leucotrichaceae* :

الخيوط غير متحركة إطلاقا بالرغم من أن وحدات التكاثر التى تكونها والتى تعرف باسم جونيديات (gonades) يمكنها أيضا القيام بحركة زحفية . يتبع هذه العائلة الجنس *Leucothrix* .

عائلة — Family *Achromatiaceae*

وهى تتبع هذه الرتبة مؤقتا

توجد الخلايا مفردة وليست فى خيوط ، وتقوم بحركة اهتزازية تدحرجية rolling movement . وتحت ظروف بيئية معينة نجد الخلايا تحتوى على بلورات من كربونات الكالسيوم . تشتمل العائلة على جنس واحد هو :

جنس — *Achromatium*

خلاياه كبيرة نسبياً مفردة . بيضية أو كروية . تحتوى حبيبات كبريت عندما توجد فى بيئة تحتوى على (يد $_2$ كب) وكذلك على بلورات من كربونات الكالسيوم . خلايا غير متحركة تظهر حركة انزلاقية تدحرجية بسيطة بطريقة مستقلة عن السطح النامية عليه والنوع المثالى *Achromatium oxaliferum* والذى يتميز بوجود بلورات كربونات الكالسيوم بخلاياه . يوجد فى المياه العذبة وفى التربة الغدقة .

الجزء الثالث

البكتيريا المغلفة The Sheathed bacteria

تعرف أيضا بالبكتيريات شبيهة الطحالب . إلا أنها عديمة اللون تتواجد فى خيوط trichomes قد تكون ذات غلاف ensheathed أو غير مغلفة غير متفرعة حقيقياً ، ولكنها قد تظهر نوعا من التفرع الكاذب . والأفرع الكاذبة

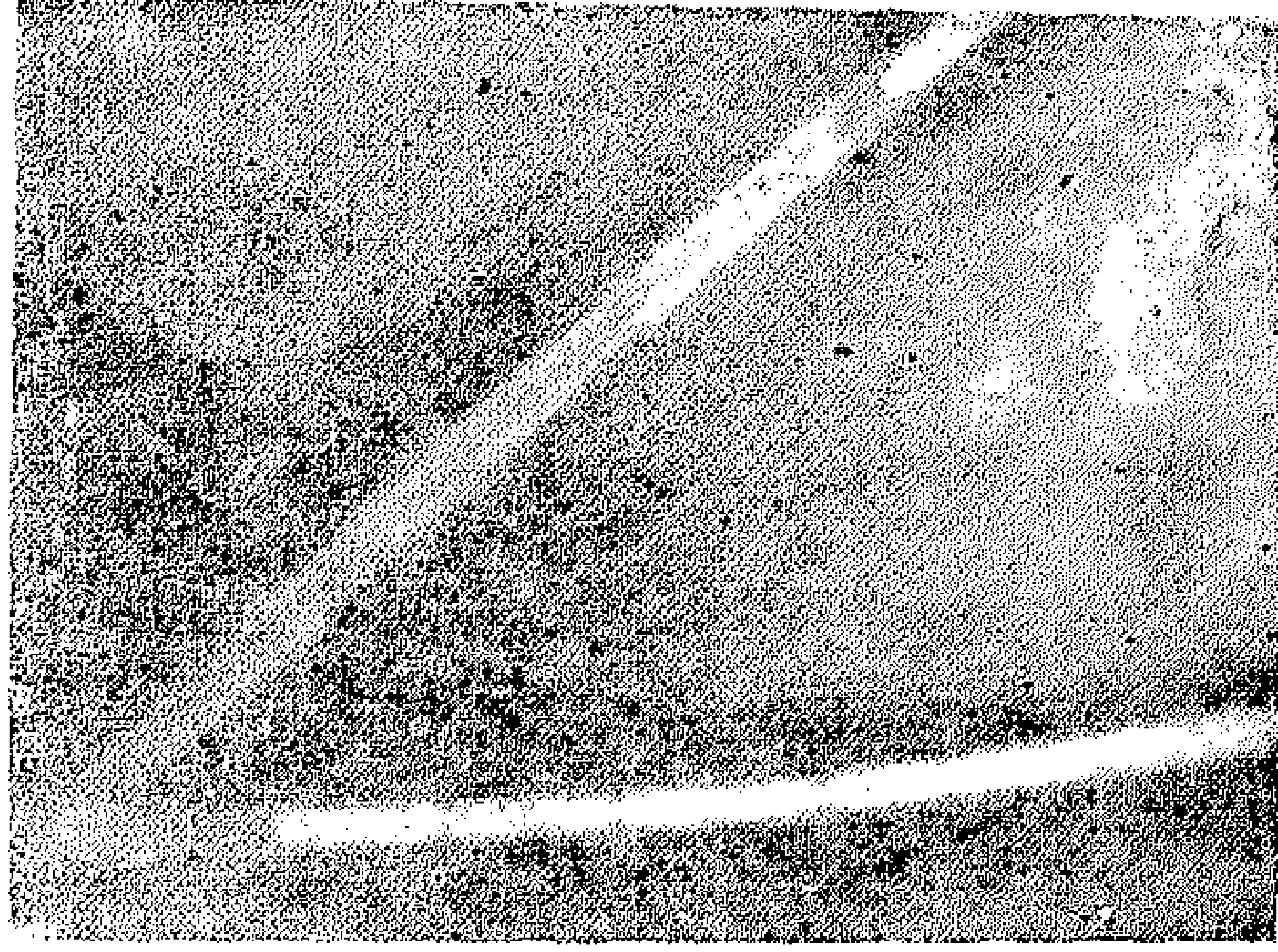
تنشأ عادة عندما تتواجد أحد خلايا الخيط فى وضع غير طبيعى بداخل الخيط فينشأ عنها فرع جديد محاط بالغلاف الأصلى للخيط .

ويتكون الغلاف من مادة أساسية عضوية تكون مشبعة بأكسيد الحديد أو المنجنيز أو تكون خالية كلية من أكاسيد المعادن . الخلايا الفردية المكونة للخيوط سالبة لصبغة جرام ذات أسواط طرفية تشبه فى مظهرها أفراد رتبة *Pseudomonadales* . تتكاثر عن طريق جراثيم سوطية متحركة flagellated swarm spores أو عن طريق الجراثيم الكونيدية العديمة الحركة . لاتكون جراثيم داخلية مثل تلك التى تكونها أنواع الجنس *Bacillus* . أفراد هذه المجموعة بكتيريات مائية تعيش فى المياه العذبة والمياه المالحة . والخلايا الفردية منها قد تظهر اختلافات مورفولوجية تبعاً للظروف البيئية النامية عليها وكان لهذا أثره فى صعوبة تصنيف وتقسيم أفراد هذه الرتبة من البكتيريات .

ومن أهم مميزات هذه المجموعة وجود الأغلفة الأنبوبية المحيطة بالخيوط ، ومن هنا جاءت تسميتها بالبكتيريات المغلفة . وأفراد هذه الرتبة لاتستعمل كثيرا فى الدراسات الميكروبيولوجية الروتينية لذلك كانت المعلومات الخاصة بها قليلة نسبياً .

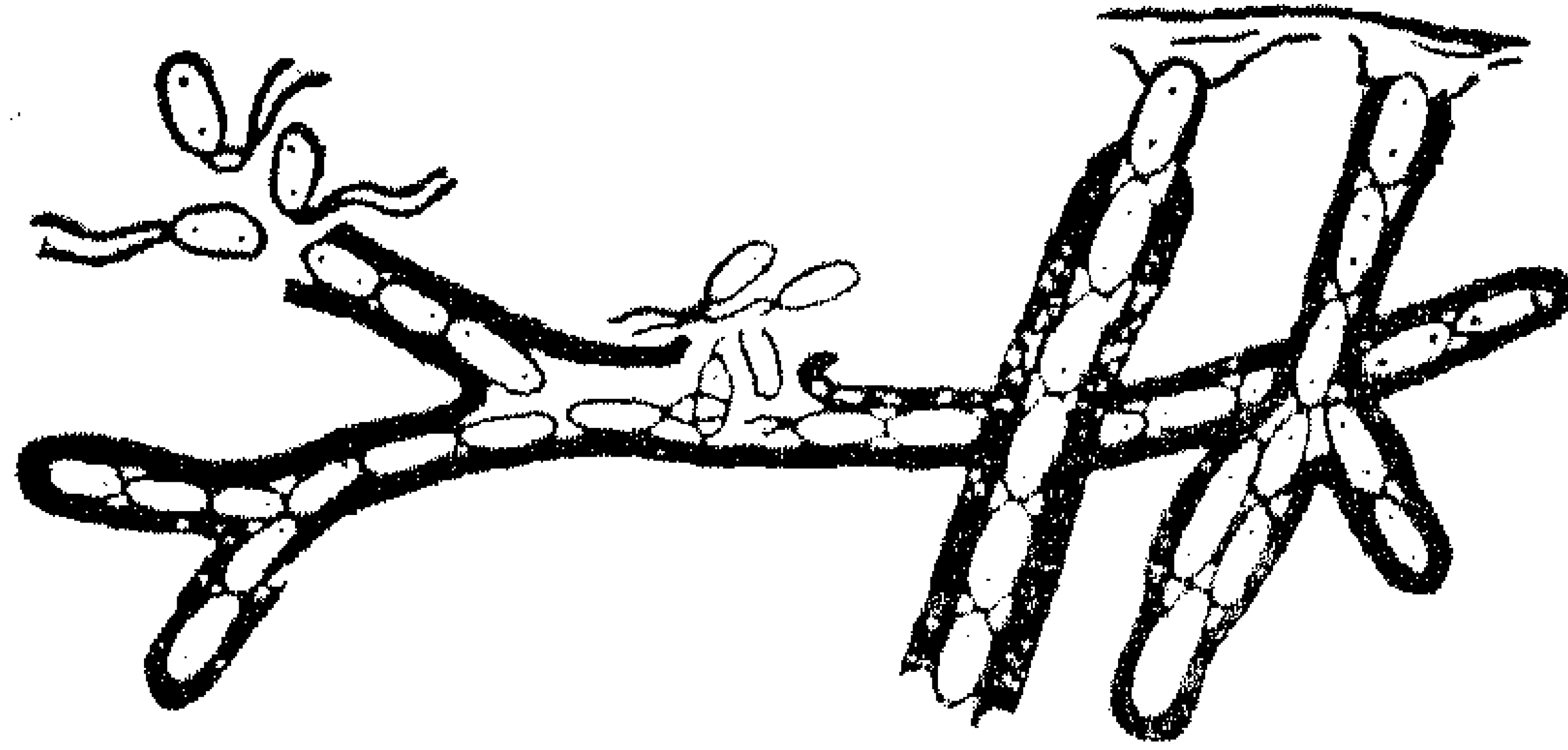
وتخرج الجراثيم السوطية المتحركة من فتحة نهائية فى قمة الخيط عادة أو من أى كسر يحدث للغلاف . والأغلفة الفارغة تترسب وتتراكم فى البيئة بعد خروج وانطلاق الجراثيم المتكونة بها .

ومن أهم أجناس هذه المجموعة *Sphaerolitus* وقد درست أنواعه بدرجة أكبر من غيره من بكتيريات هذه الرتبة . تتواجد خلاياه فى سلاسل أو فى خيوط محاطة بغلاف Sheath . ويتكون الغلاف من النشاط الإفرازى للخلايا المكونة للخيط وتحتوى على أملاح غير ذائبة من الحديد والمنجنيز ، وقد يتفرع الغلاف ليعطى الكائن مظهراً متفرعاً ، إلا أن هذا التفرع يكون كاذباً وليس تفرعاً حقيقياً (شكلى ١٣٥ ، ١٣٦) . والخلايا التى تنطلق



شكل ١٣٥ : بعض خيوط من البكتيريا *Sphacrotilus natans* مصبوغة بالنيجروسين قياسات الخيط ١ × ٢ـ٦ ميكرون لاحظ أن الغلاف قد يصل طوله الى عدة مليمترات .

من الفتحة القمية للخيط أو من أى مكان يكسر عنده الغلاف تكون سالبة لصبغة جرام وذات أسواط طرفية تشبه إلى حد ما خلايا البكتيريا *Pseudomonade* .



شكل ١٣٦ : رسم تخطيطى لخيوط من جنس *Sphaerotilus* تبين الغلاف (Sheath) ، والماسك (holdfast) والخلايا المتحركة motile swarmers والتفرع الكاذب .

وهذه المجموعة تتبعها أجناس أخرى هى *Leptothrix*

و *Lieskeella* و *Streptothrix* و *Crenothrix*

و *Phragmidiothrix* و *Clononothrix*

الجزء الرابع

البكتيريا المتبرعمة و / أو البكتيريا ذات الزوائد

Budding and / or Appendaged Bacteria

وهى مجموعة من البكتيريا تتكاثر عن طريق التبرعم و / أو قد تكون لها زوائد نصف صلبة تمتد من الخلايا وقطر هذه الزوائد دائما أقل من قطر الخلايا وتحاط بالجدار العلوى غالبا .

ويتبع هذه المجموعة عدد من الأجناس : —

الجنس — *Hyphomicrobium*

أفرادها ذات خلايا كمثرية تتصل بالسطوح الصلبة عن طريق حوامل اسطوانية طويلة ذات مواسك مميزة holdfasts عند قواعدها . وقدتكون الحوامل مفردة أو تتكون فى مجاميع متشعبة ذات ماسك واحد . تنمو على سطوح المياه العذبة . لايمكن تنميتها فى البيئات الصناعية .



شكل ١٢٧ : (ا) خلايا من البكتريا التابعة لجنس *Caulobacter* ملتصقة بخلايا البكتيريا *Bacillus* .sp ب) مجموعة من خلايا تابعة لنفس الجنس *Caulabacter* متصلة معا عن طريق ماسك مشترك .

الجنس *Gallionella* والجنس *Caulobacter*

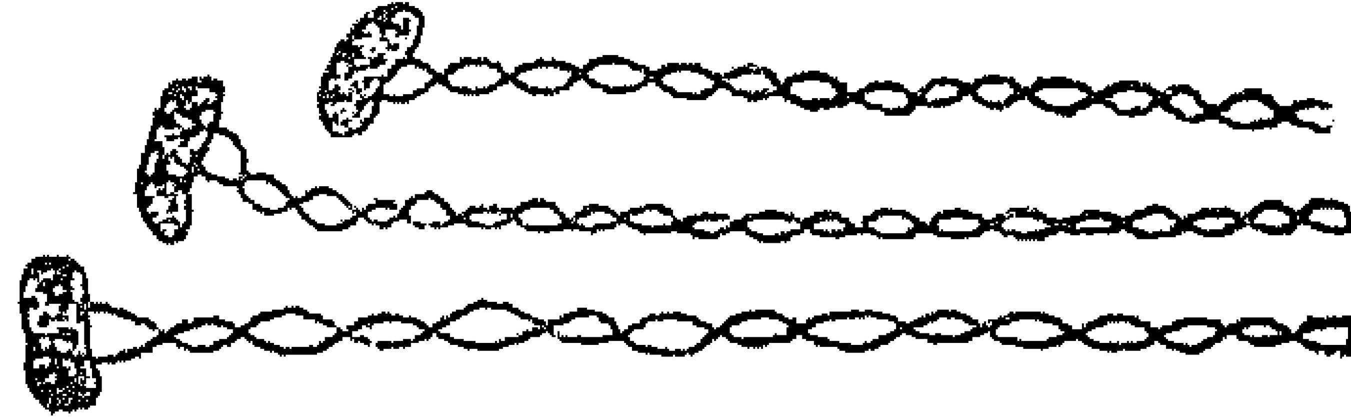
يطلق على أفراد هذين الجنسين البكتيريات المعنقة Stalked bacteria وتتجمع هذه الأعناق فى مواسك Holdfasts رهيفة تستعمل فى إلتصاق الخلايا بالمادة النامية عليها . والخلية الفردية إما أن تكون عصوية مستقيمة منحنية وهى عادة سالبة لصبغة جرام ذات أسواط طرفية. تتواجد أفراد هذه المجموعة طبيعياً فى المياه العذبة أو الملحة . ومن أهم أجناسها جنسى *Gallionella*، Caulobaeter. ففى جنس Caulobacter (شكلى ١٣٧ ، ١٣٨) يلاحظ أن المحور الطولى للحامل stalk يكون موازياً للمحور الطولى للخلية وعدة



شكل ١٣٨ : (ا) خلية تابعة لجنس *Caulobacter* ذات حامل (stalk) متصل بخلية من البكتيريا *Bac. surbtilis* (ب) خلية مشابهة فى طور متقدم من النمو لاحظ انقسامها واحتوائها على سوط طرفى من أحد أطرافها وعنق أو حامل من الطرف الآخر لاحظ تحلل خلية البكتيريا النامية عليها وانها ذات أسواط جسمية .

تشاهد مجاميع من هذه الخلايا المعنقة متصلة بماسك holdfast مشترك وملتصق بالمادة النامى عليها .

وأفراد الجنس Gallionella (شكل ١٣٩) تكون خلاياه منحنية بحيث تظهر بشكل كلوى كما يكون المحور الطولى للخلية متعامداً مع المحور الطولى للعنق الطويل . والخلية لها أكثر من عنق واحد وتكون هذه الأعناق طويلة وملتفة ومشبعة بايدروكسيد الحديديك . وتتواجد أفراد هذا الجنس أيضاً فى المياه وبخاصة المياه المحتوية على مواد ذائبة أو مختزلة . ولما كان لهذه البكتيريا القدرة على تحويل مركبات الحديد الذائبة والمختزلة إلى مركبات حديديك غير ذائبة فإن أفراد هذا الجنس تعرف ببكتيريا الحديد .



شكل ١٣٩ : رسم تخطيطى يبين خلايا من جنس Gallionella لاحظ الأعناق (stalks) والتى تظهر كشرائط ملتوية حول بعضها تمتد من المنطقة المقعرة من الخلية . الشرائط مشبعة بايدروكسيد الحديديك .

الجزء الخامس : الاسبيروكيتات

The Spirochetes

الرتبة : الاسبيروكيتات Order *Spirochaetales*

أفراد هذه الرتبة ذات خلايا مرنة كبيرة يتراوح طولها بين ٦ — ٥٠٠ ميكرون . ذات مظهر حلزونى يحتوى فى الأقل على انثناءة واحدة كاملة. بعض الأفراد يظهر بروتوبلازمها متجانسا أو قد يترتب بطريقة خاصة تظهر الخلايا وكأنها ملتفة بواسطة خيط محورى axial filament ، أو ذات زوائد جانبية lateral crista أو ذات ارتفاعات ضيقة ridges أو ذات تخطيطات

عرضية . الأنواع الصغيرة الحجم منها تكون قدرتها على كسر الضوء أقل كثيرا من البكتيريات الحقيقية ، لذلك فلايمكن رؤيتها إلا باستعمال المجهر ذى الحقل المظلم . بعض أفراد هذه العائلة تصطبغ بصعوبة بالصبغات الانيلية . إلا أنها تصطبغ بسهولة وبانتظام باستعمال صبغة الجيمسا Gieimsa. بعض الأنواع تحتوى على الحبيبات granules . كل أفراد هذه الرتبة متحركة بالرغم من عدم امتلاكها للأسواط . وأحيانا قد تظهر زوائد طرفية قد تكون ناتجة عن الطبقات الخارجية من الخلية أو من الخيط المحورى axial filament والتى قد تفسر خطأ على أنها أسواط أو أعضاء أخرى للحركة ويقال أن الزوائد الجانبية lateral cresta التى تحملها بعض الأفراد قد تساعد فى حركة هذه البكتيريات غير أن هذه التركيبات جميعاً لايمكن عن طريقها تفسير الحركة القوية لهذه البكتيريات . وحركة هذه البكتيريات كما سبق أن بينا تتضمن التفاف الخلية حول محورها الطولى ، وهذه تؤدى إلى تحرك الخلايا إلى الأمام أو إلى الخلف كما أن تموجات جسم الخلية المرنة نفسها وانفرادها يؤدى إلى تحركها أيضاً . تكاثرها يتم عن طريق الانفلاق العرضى . غالبية أفرادها رميات .

وتشمل هذه الرتبة عائلة هى *Spirochaetaceae* ويتبعها عدد من الأجناس

جنس — *spirochaeta*

لايشاهد على خلايا أنواعه غشاء بريبلاستى periplast membrane كما لايشاهد عليها تخطيطات عرضية . ذات أطراف مستديرة أو مدببة . يلتف البروتوبلاست حول خيط محورى مميز . تتحرك الخلايا حركة زحفية . تعيش أفراده فى المياه العذبة والملحة وبخاصة فى وجود ($يد_٢كب$) تتواجد باستمرار فى مياه المجارى .

جنس — *Cristospira*

الخلايا مرنة تظهر بشكل حلزونى طويل ٢٨ — ١٢٠ mμ يتميز بوجود crista

أو غشاء رقيق يبرز فى مناطق مختلفة من جسم الخلية وممتدا بطول الخليـــة ذات التخطيطات العرضية (شكل ١٤٠) . تتحرك بسرعة. تتواجد بكثرة فى القنوات الهضمية للقواقع .



شكل ١٤٠ : صورة ميكروسكوبية لخلية من البكتيريا *Cristospira balbiani* تبين الحزمة الحلزونية من الأسواط أو ما يعرف بالقشور Crista التى تبرز فى مناطق مختلفة من جسم الخلية.

جنس — *Barrelia*

أنواع هذا الجنس يسهل صبغها بصبغات الأنيلين. يتراوح طول خلاياها بين ٨ — ١٦ ميكرون . حلزونات غير منتظمة ذات نهايات مدببة تنتهى بخيوط رفيعة (ليست أسواط) ومن أنواعها *Borrellia recurrentis* المسببة لمرض الحمى الراجعة relapsing fever فى الانسان كما أن هناك أنواعا أخرى تصيب الانسان والحيـوان والطيور .

جنس — *Treponema*

أنواع هذا الجنس يتراوح طول خلاياها بين ٣ — ١٨ ميكرون



شكل ١٤١ : صورة ميكروسكوبية لأحد خلايا البكتيريا *Treponema palliaum* تبين انفراد بعض الخيوط التى كانت ملتفة حول جسم الخلية التى ليست أسواط كما يعتقد البعض -- لاحظ مقياس الرسم .

(شكل ١٤١) وتظهر بشكل حلزونات منتظمة . لايمكن صبغها بالطرق الاصطباغية العادية . بكتيريات هوائية . النوع المثالى *Treponema Pallidum* المسبب لمرض الزهرى Suphilis فى الانسان . ومن الأنواع الأخرى مـا هو ممرض أيضاً للانسان والحيوان .

جنس — *Leptosipira*

أنواعه ذات خلايا قصيرة نسبياً أقصر من تلك التابعة للأجناس الأخرى (شكل ١٤٢) ولكن ليس ذلك فى حد ذاته وسيلة من وسائل التمييز بينها وقد لوحظ أنه عقب الصبغ تظهر أنواع هذاالجنس بحالةتشبهأفرادجنس *Treponema* ولكنها تتميز بكونها هوائية . بعض أنواع هذا الجنس طفيلية والبعض الآخر رمية .



شكل ١٤٢ : صورة الكترو ميكروسكوبية لأحد خلايا البكتيريا *Leptospira canicola* تبين وجود نوعين من الخيوط filaments أحدهما محورى يلتف جسم الخلية حوله ، والآخر موازياً لمحور الخلية (بمعنى أنه يلتف مع انثناءات الخلية) .

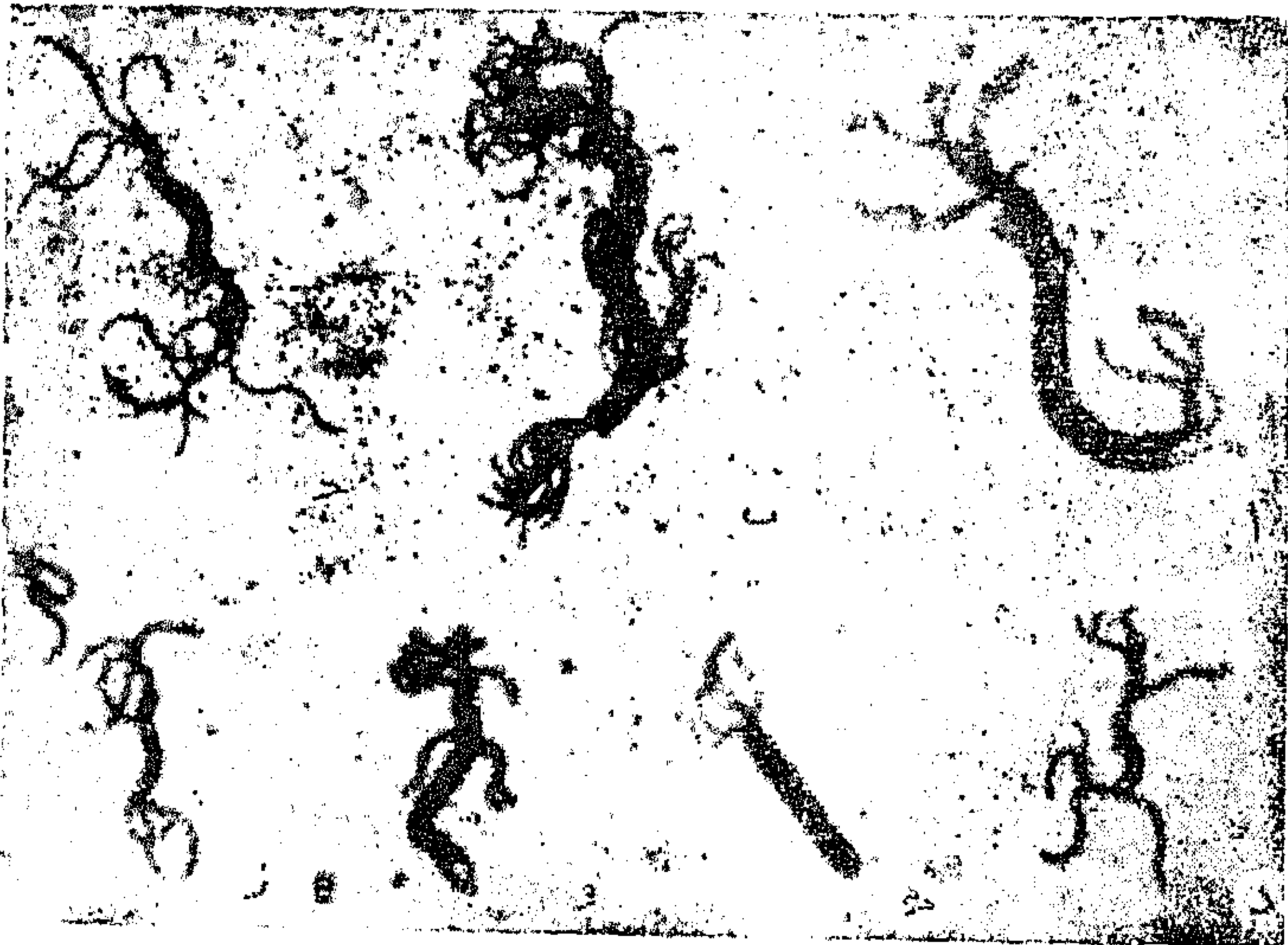
الجزء السادس

البكتيريا المنحنية والحلزونية Spiral and Curved bacteria

العائلة *Spirillaceae*

عصويات صلبة منحنية حلزونية مع وجود أقل من لفة كاملة إلى عدد

من اللفات. قطر الخلية ٢,ـ ١,٧ μm وطول الحلزون ٥,ـ ٦٠ μm متحركة تعوم فى خطوط مستقيمة مع وجود حركة مميزة تشبه ثاقب الفلين . قد تمتلك سوط واحد طرفى أو خصلة من أسواط طرفية . الاسواط قد تكون عند طرف واحد أو كلا الطرفين . بعض الأنواع هوائية إجبارا أو تتطلب ضغط منخفض من الأكسجين ويشترط توفر الأكسجين كمستقبل نهائى للإلكترونات . توجد أنواع غير هوائية ولكنها تنمو تحت ظروف من نقص الأكسجين . التغذية Chemoorganotrophs . غير قادرة على تخمير الكربوهيدرات ولو أن عددا قليل من الأنواع تستطيع أكسدة عدد محدود منها . موجبة للأوكسيديز . سالبة للإندول . بعض الأنواع تستطيع إنتاج صبغة خضراء مصفرة ذائبة فى الماء فلوريسنتيه . بعض الأنواع تستطيع النمو فى بيئة بسيطة بها أملاح معدنية ومصدر واحد كربونى وكبريتات أمونيوم والبعض الآخر تحتاج إلى بيئة معقدة .



شكل ١٤٣ : لوحة تبين بعض الخلايا التابعة لجنس *Spirillum* (أ) *Spirillum-serpens* (ب) *Spirillum* sp. (جـ ، د) *Spirillum itersonii* . (هـ ، و) *Spirillum virgimianum* عصويات منحنية قليلا. (ز) *Spirillum* sp معزول من المياه العذبة.

بعضها تعيش معيشة حرة فى الماء أو فى البيئات البحرية والبعض الآخر متطفلات أو مترممات وبعضها ممرض . وتشتمل هذه العائلة على جنسين وهما الجنس *Spirillum* (شكل ١٤٣) والجنس *Campylobacter*

الجزء السابع

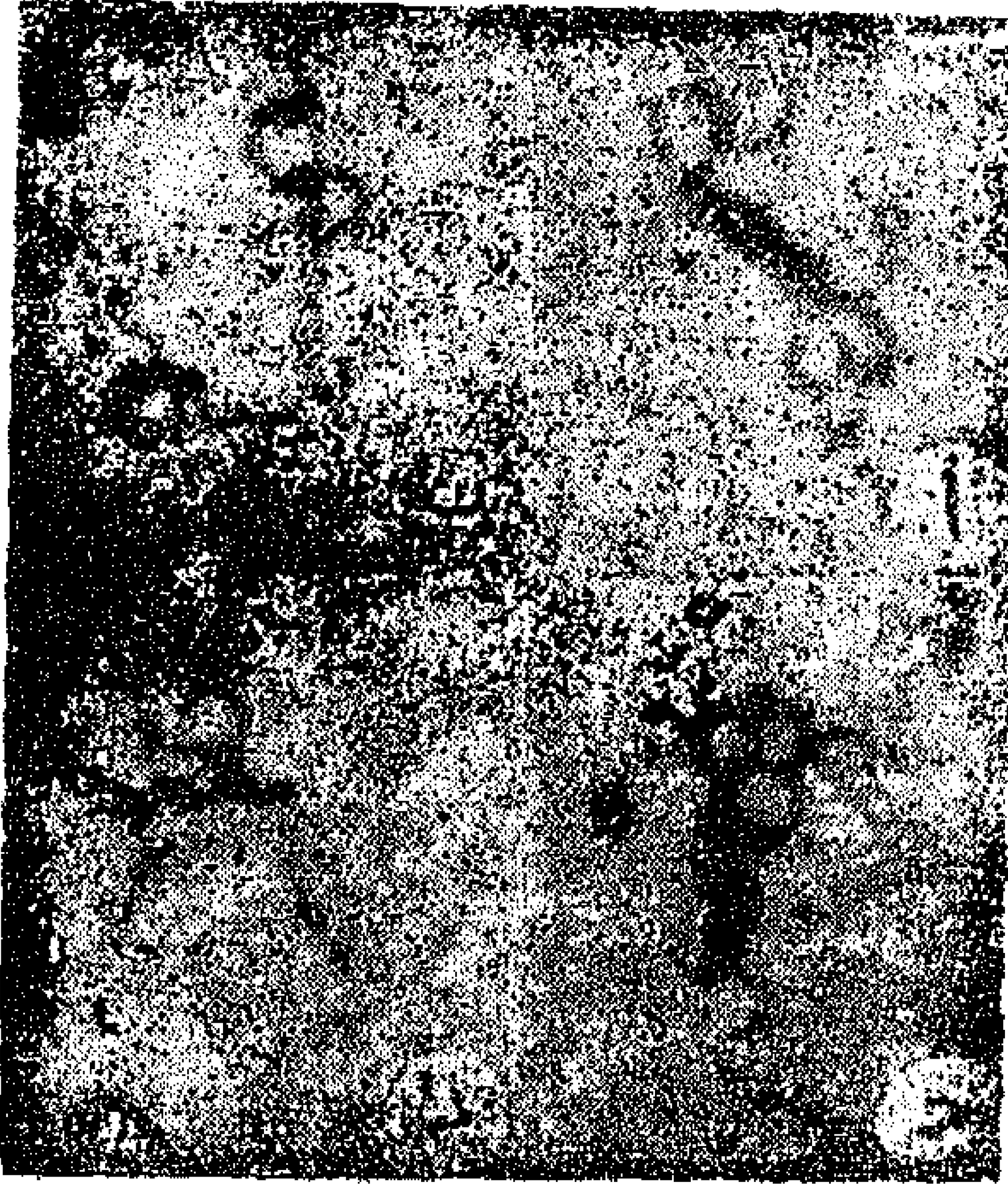
البكتيريا العصوية أو الكروية الهوائيةوالسالبة لصبغة جرام

Gram - Negative Aerobic Rods and Cocci

العائلة الأولى

pseudomonadaceae

تشمل هذه العائلة مجموعة كبيرة من الأجناس ذات الخلايا الفردية القريبة الشبه بالبكتيريات الحقيقية. وتتميز أفراد هذه العائلة بما يلى من صفات : عصويات متوسطة الطول سالبة لصبغة جرام ، متحركة عن طريق الأسواط الطرفية (بعضها قد يمتلك سوطا واحدا أو خصلة من الأسواط الطرفية) ، هوائية ، غير متجرثمة ، غير ذاتية التغذية (تنمو جميعها جيدا على سطح البيئات البسيطة مثل الآجار المغذى). تهاجم أفراد هذه العائلة مجموعة مختلفة من المركبات العضوية بطريقة تأكسدية . كثير من الأنواع تتميز بافرازها صبغات تذوب أو لاتذوب فى الماء. بعضها يسبب أمراضا للنبات. تنتشر أفراد هذه العائلة بدرجة واسعة بالطبيعة



شكل ١٤٤ : لوحة الخلايا بعض البكتيريات التابعة لجنس *Pseudomonas* والمسببة لأمراض نباتية (ا) *Pseudomonas angulatum* المسبب للتبقع الزاوى لأوراق الدخان لاحظ وجود عدة أسواط على كلا الطرفين lophotrichous (ب) . *Ps.savastanoi* var *fraxini* المسبب لتعقد أفرع الزيتون . عدة أسواط على كلا الطرفين . (ج) *Ps. glycinea* الممرض لنباتات فول الصويا . عدة أسواط طرفيه (د) *Ps. marginalis* المسبب لتبقع حواف اوراق الخس .

فهى تتواجد بالتربة أو بالمياه. وأهم الأجناس هى *Pseudomonas* و *Xanthomonas* وفيما يلى وصف تفصيلى لهذه الأجناس :

جنس — *Pseudomonas* :

وتعرف البكتيريا التابعة لهذا الجنس باسم *Pseudomonas* (شكل ١٤٤) يمكنها أن تنتج صبغة قابلة للذوبان فى الماء تتركب من واحد أو أكثر من الصبغات التالية :

صبغة البايوسيانين Pyocyanin وهى ذات لون أزرق مخضر .
صبغة البايوروبين pyorubin وهى ذات لون أحمر .
صبغة الفلوروسين fluorescein صبغة فلورسنتية ذات لون أصفر مخضر .

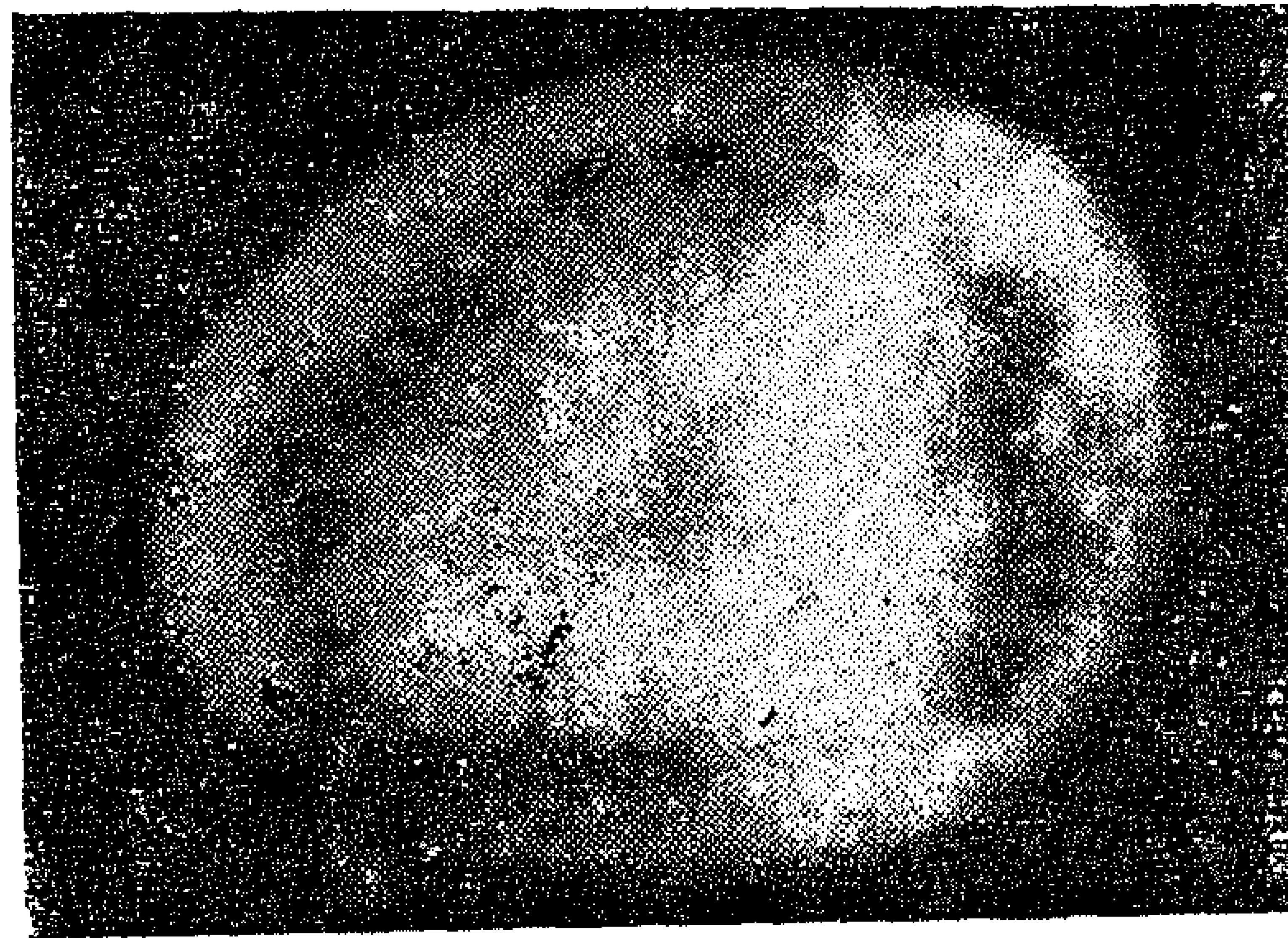
فعند تنمية البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* على بيئة الآجار المغذى يلاحظ دائما تلون البيئة بلون أزرق مخضر . كما تشاهد درجات مختلفة الألوان عند تنمية الأنواع أو السلالات الأخرى تبعاً لنوع الصبغة التى تنتجها ، فمثلا



شكل ١٤٥ : نبات طماطم تظهر عليه أعراض الذبول نتيجة لأصابته بالبكتيريا *Pseudomonas solanacearum*

البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تتميز بانتاجها للصبغة الخضراء ، المصفرة الفلورسنتية وفى كونه لايفرز صبغة pyocyanin الحمراء . هذا ويختلف النشاط الأيضى لأفراد هذا الجنس اختلافا كبيرا . ففى حين أن الكثير من أنواع هذا الجنس ذو قدرة على تحليل البروتينات فاننا نجد البعض الآخر يختزل النترات إلى نيتريت nitrite ثم إلى أمونيا (عملية اختزال النترات) فاننا نجد أن البعض الآخر يمكنه أن يختزلها مباشرة إلى غاز النيتروجين (عملية عكس التأزت) . وغالبية أنواع هذا الجنس تؤكسد الجلوكوز إلى حمض جلوكونيك ثم إلى حمض ٢ — كيتوجلوكونيك وبعض المركبات الوسطية الأخرى كما أن لها القدرة أيضاً على مهاجمة كثير من المواد الكيماوية التى لاتقدر على مهاجمتها البكتيريات الأخرى . عديد من أنواع الجنس ، ممرض للنباتات مثل *Pseudomonas solanacearum* المسبب ، لمرض الذبول فى النباتات الباذنجانية أو مرض التعفن البنى فى البطاطس (شكل ١٤٦)*pseudomonas savastanoi* المسبب لتعقد أفرع الزيتون .

هذا والبكتيريا *Pseu.aeruginosa* قد تصيب الانسان ولها أهمية كبرى فى تلويث الجروح والحروق .



شكل ١٤٦ : قطاع فى درنة بطاطس مصابة بالتعفن البنى .
لاحظ الافرازات البكتيرية فى منطقة الأسطوانة الوعائية .



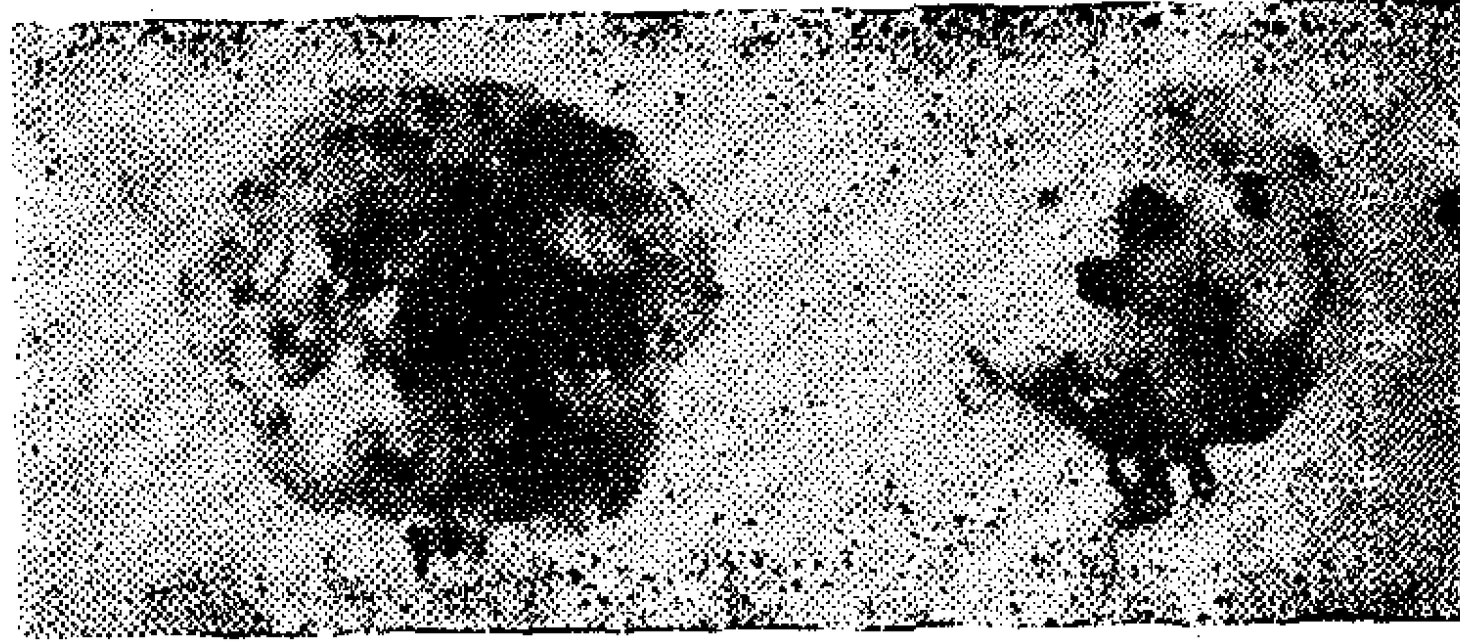
شكل ١٤٧ : لوحة لخلايا بعض البكتيريا التابعة لجنس *Xanthomonas* والمسببة لأمراض نباتية . لاحظ أنها جميعاً ذات أسواط مفردة طرفية (أ) *X. compestris* (ب) خلايا من نفس البكتيريا تبين إمكان تواجد أكثر من سوط واحد عند نفس الطرف . (ج) *X.amarothicola* (د) *X.popovericola* (هـ) *X. manthotis* (و) *X. vignicola* (ز) *X.recinicola* (ح) *X.rubilneans* (ط) *X. zinniae*

جنس — *Xanthomonas*

يشمل هذا الجنس ستين نوعا ، وتتميز أفراده باحتواء خلاياها على سوط واحد طرفى monotrichous (شكل ١٤٧) وفيما عدا ذلك فانها تشابه كثيرا أنواع الجنس السابق . كما تختلف عنها فى قدرتها على افراز صبغة صفراء ليس لها القدرة على الانتشار فى البيئة لعدم قابليتها للذوبان فى الماء

فتبدو الصبغة محصورة فى مستعمراتها التى تظهر باللون الأصفر بدرجاته المختلفة . وتعتبر أفراد هذا الجنس أقل فى نشاطها الأيضى من أنواع الجنس السابق . معظم أفرادها تسبب أمراضا نباتية تبقعية مثل :

Xahthomonas malvacearum المسبب للتبقع الزاوى واللفحة البكتيرية للقطن ، *Xanthomonas vesicatoria* المسبب لتبقع أوراق وثمار الطماطم (شكل ١٤٨).

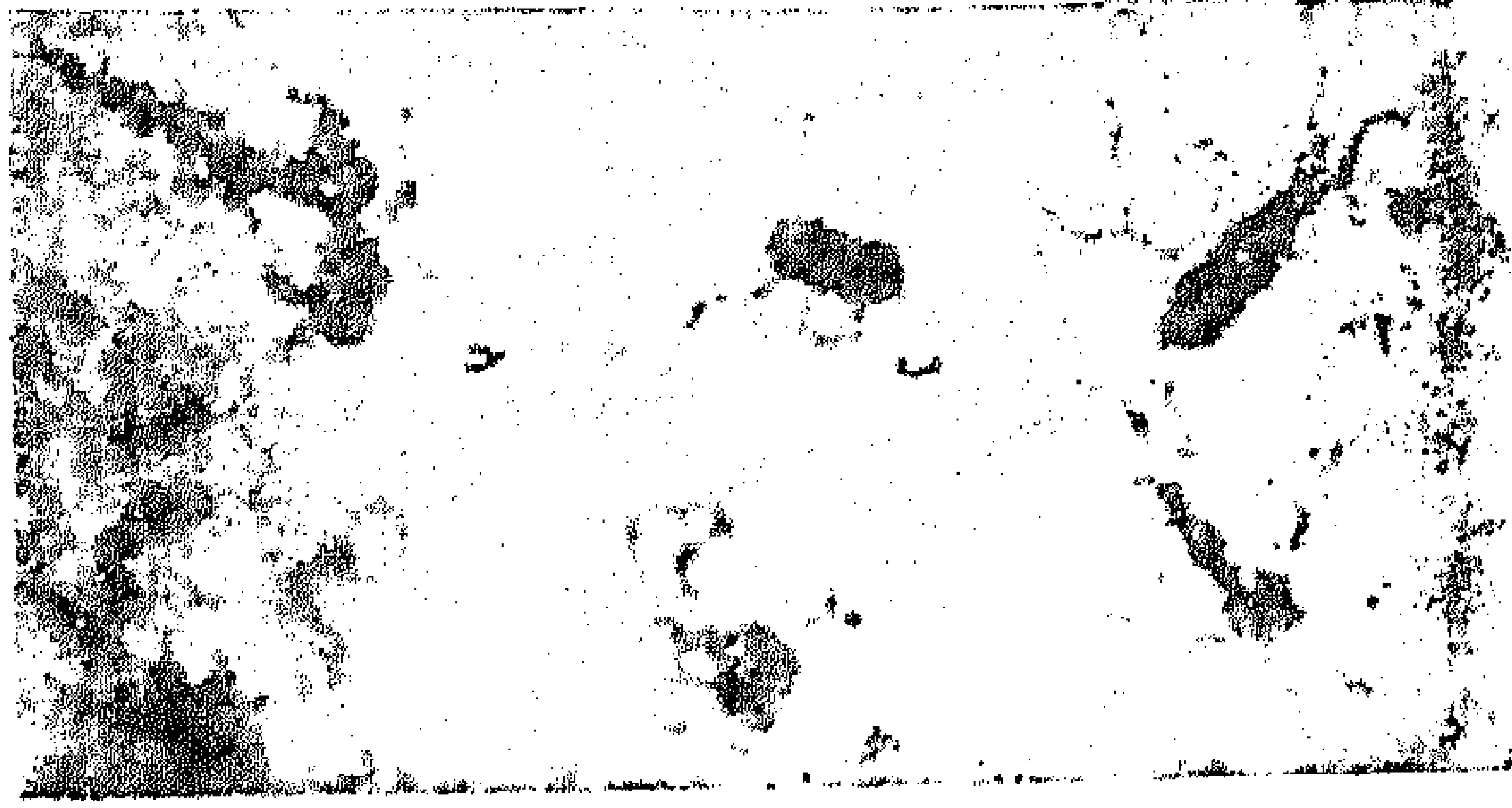


شكل ١٤٨ : ثمار طماطم يظهر عليهـا أعراض التبقع البكتيرى نتيجة لاصابتهـا بالبكتيريا *X.veicatoria*

العائلة الثانية Azotobacteraceae

افراد هذه العائلة ذات خلايا تتراوح فى مظهرها بين العصوية القصيرة والبيضية الكبيرة نسبيا . يمكن لأفرادها القيام بتثبيت الآزوت الجوى إذا توافرت الكربوايدرات كمصدر للطاقة . تعيش معيشة حرة بالتربة هوائية اجبارا ، متحركة ذات أسواط جسمية ، تنمو جيدا فى البيئات الخالية من مصدر الآزوت . والجنس الوحيد الذى تشمله هذه العائلة هو جنس *Azotobacter* الذى يتبعه أربعة أنواع هامة *Azotobacter chroococcum* و *A.agilis* و *A. vinelandii* و *A,indisum* (شكل ١٤٩) .

وتتميز أنواع هذا الجنس بخلاياها الكبيرة نسبيا والتى تشبه فى مظهرها إلى حد ما خلايا الخميرة . وينطبق عليها كل الصفات السابق ذكرها فى وصف العائلة . تنمو افراد هذا الجنس على البيئات الغذائية مكونة غشاء pelicle على سطح البيئة السائلة . تعيش فى التربة وفى المياه العذبة .



شكل ١٤٩ : لوحة لخلايا البكتريا *Azotobacter* (ا ، ب) *Azotobacter chroococcum* أسواط جسمية ذات موجات طفيفة طول الموجة ٧ ، ٢ ميكرون . (ج) خلايا من نفس البكتيريا ذات أسواط أكثر تجعداً طول الموجة ٢ ، ١ ميكرون (د) *A. vinelandii* أسواط جسمية ذات موجات طفيفة (هـ) *A.agilis* أسواط جسمية شبه ملتفة طول الموجة ٢ و٣ ميكرون . (و) *A.indicum* أسواط جسمية ذات موجات قصيرة .

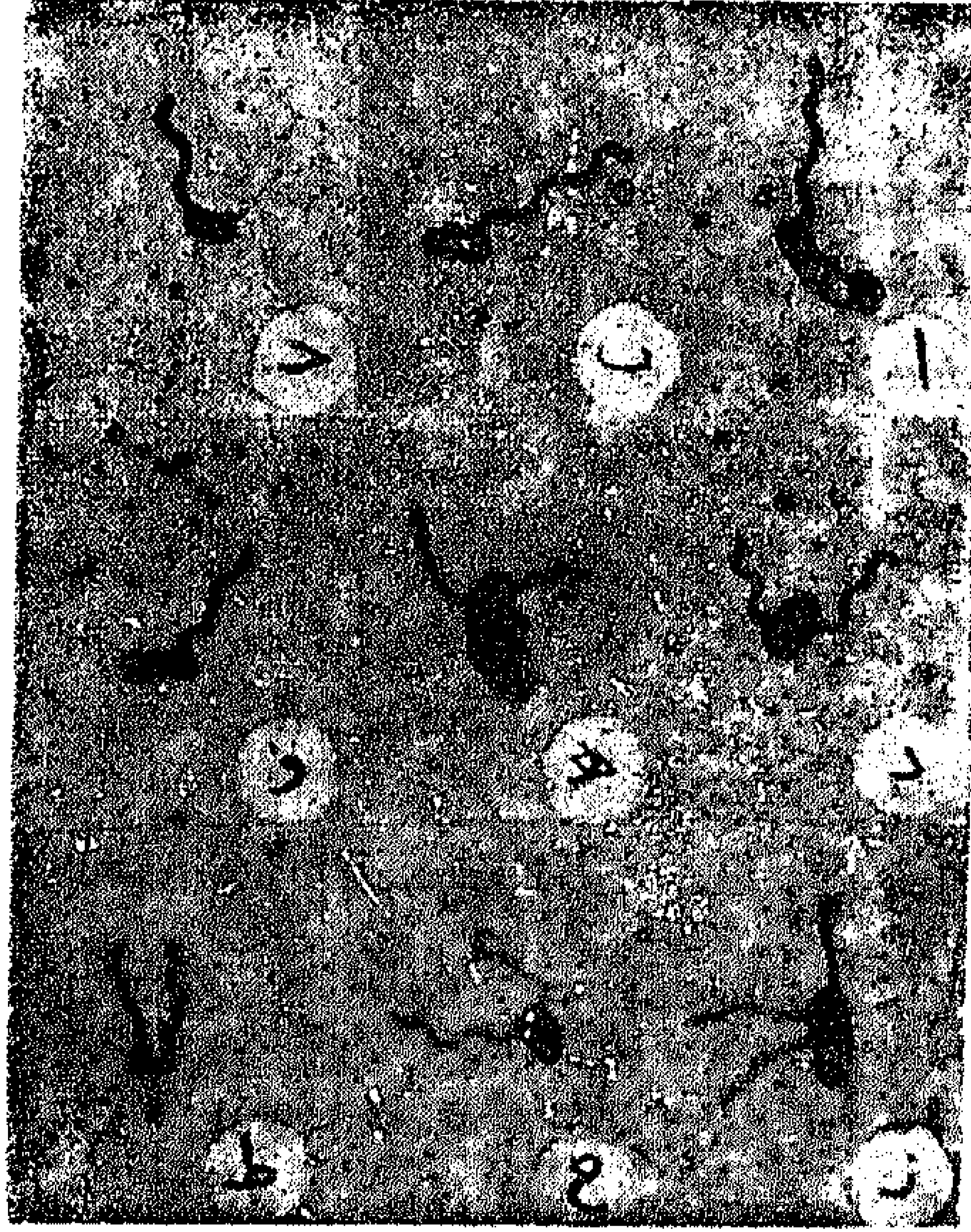
العائلة الثالثة Family *Rhizobiaceae*

تشمل أفراد ذات خلايا عصوية تظهر بعض الاختلافات المورفولوجية (pleomorphic forms) ، غير متحركة بواسطة اسواط طرفية أو تحت طرفية subpolar (شكل ١٥٠) . وفي حالات نادرة قد تشاهد على بعض ، أفرادها عدد يتراوح بين ٢ — ٤ أسواط جسمية (جانبية) . سالبة لجرام غير متجرثمة . غير ذاتية التغذية . تهاجم الجلوكوز أو السكريات الأخرى بدون انتاج احماض ذات قدرة على تثبيت الآزوت الجوى عندما تعيش معيشة تبادل منفعة أو معيشة تكافلية مع جذور البقوليات محدثة عقدا مميزة على جذورها (شكل ١٥١) . بعض الأجناس تصيب النباتات مسببة لها تورمات مرضية ولاتقوم بتثبيت الآزوت الجوى . وتشمل هذه العائلة ثلاثة أجناس هامة :

جنس — *Rhizobium*

ويعرف منه ستة أنواع من أهمها *Rhizobim leguminosarum* وهو

النوع المثالى للجنس ويتميز افراده بأنها عصويات تتراوح قياساتها بين ٥,٠- ٠,٩×١,٢ — ٣ ميكرون تكون متحركة وهى حديثة السن إلا أنها تتوقف عن الحركة وتتخذ اشكالا غير ثابتة Bacteroides عندما تنمو فى بيئات صناعية محتوية على مواد قلوية alkaloides أو جلوكسيدات glucosides كما تشاهد الخلايا بنفس المظهر عندما تكون نامية فى جذور النباتات البقولية. تنمو جيدا على البيئات الغذائية المحتوية على مستخلص الشعير أو مستخلص أو



شكل ١٥٠ : لوحة لخلايا سلالات تابعة لجنس *Rhizobium*

(أ) عزل من النبات البقولى *Phaseolus aureus* سوط واحد تحت طرفى

(ب) عزل من النبات البقولى *Lantus* « سوط واحد تحت طرفى

(ج) عزل من النبات البقولى *Vigna sinesis* وسوط واحد تحت طرفى

(د) عزل من النبات البقولى *Phaseolus vulgaris* أسواط جسمية

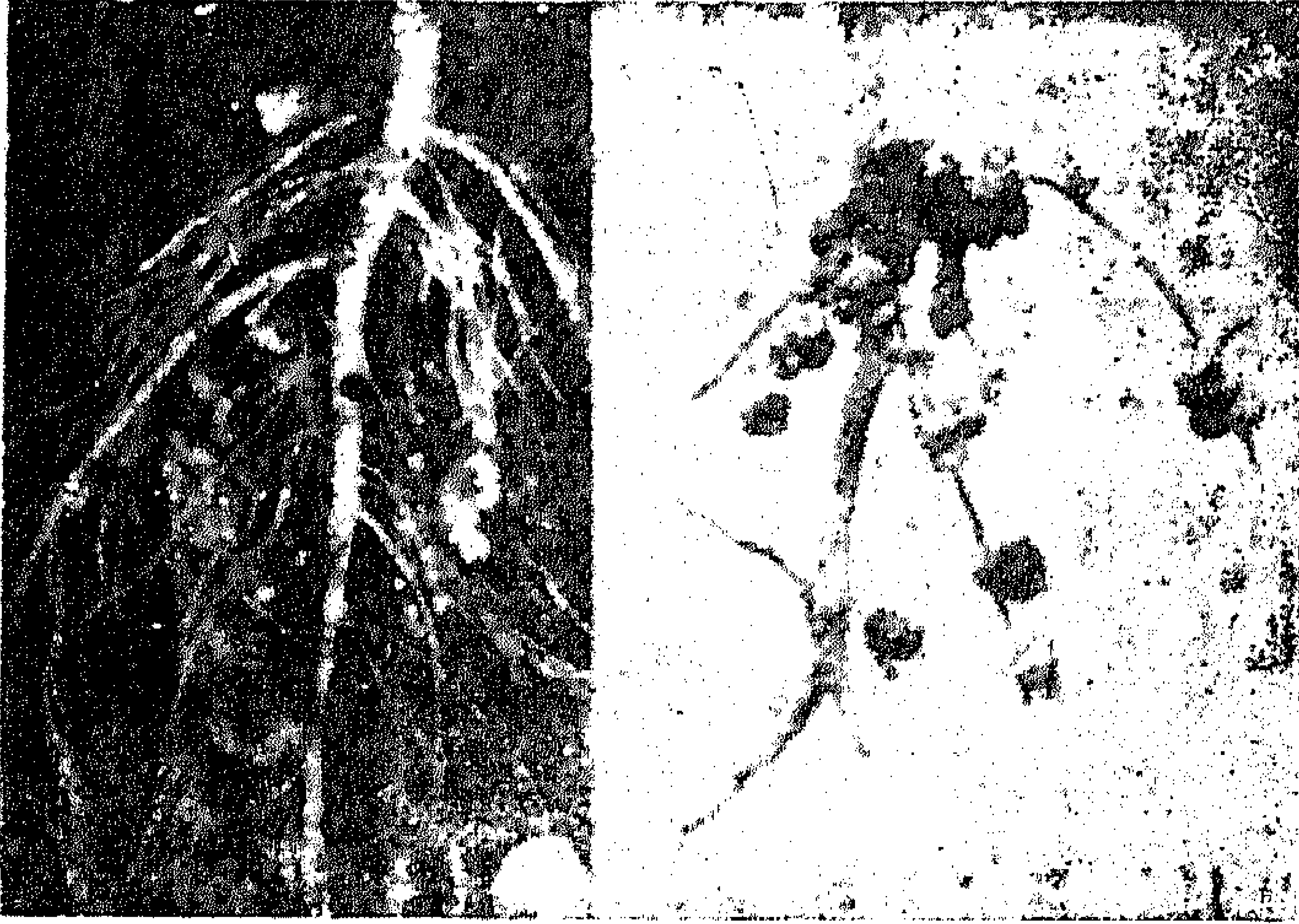
(هـ) عزل من النبات البقولى *Phaseolus vulgaris* سوطان احدهما موج والاخر مستقيم

(و) عزل من النبات البقولى *Phaseolus acomtifolius* سوط واحد تحت طرفى

(ز) عزل من النبات البقولى *Meliloru Salba* أسواط جسمية

(ح) عزل من النبات البقولى *Lupinus densiflorus* أسواط جسمية

(ط) عزل من النبات البقولى *Glycina hispida* سوطان مجعدان (تسوط غير عادى)



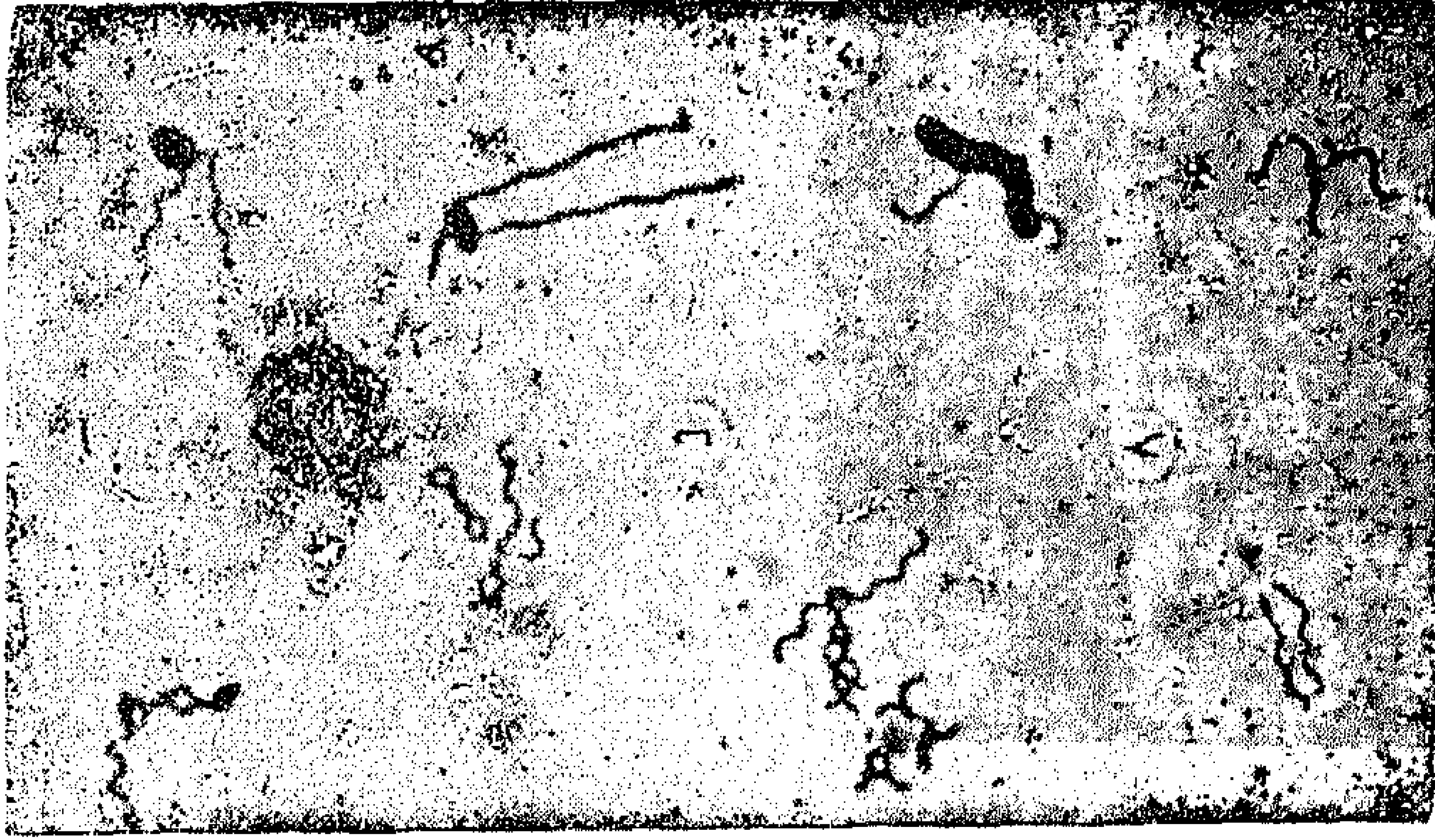
شكل ١٥١ : جذور نباتات بقولية تظهر عليها العقد الجذرية
(ا) جذور نباتات لوبيا . (ب) جذور نبات برسيم حجازى .

المستخلصات النباتية الأخرى . يمكنها اختزال النترات إلى نيتريت . لاتسيل الجيلاتين ، تفضل درجة ٢٥°م كدرجة حرارة مثالية للنمو . تصيب جذور النباتات البقولية مكونة عقدا جذرية (شكل ١٥١) وتقوم بتثبيت الآزوت الجوى .

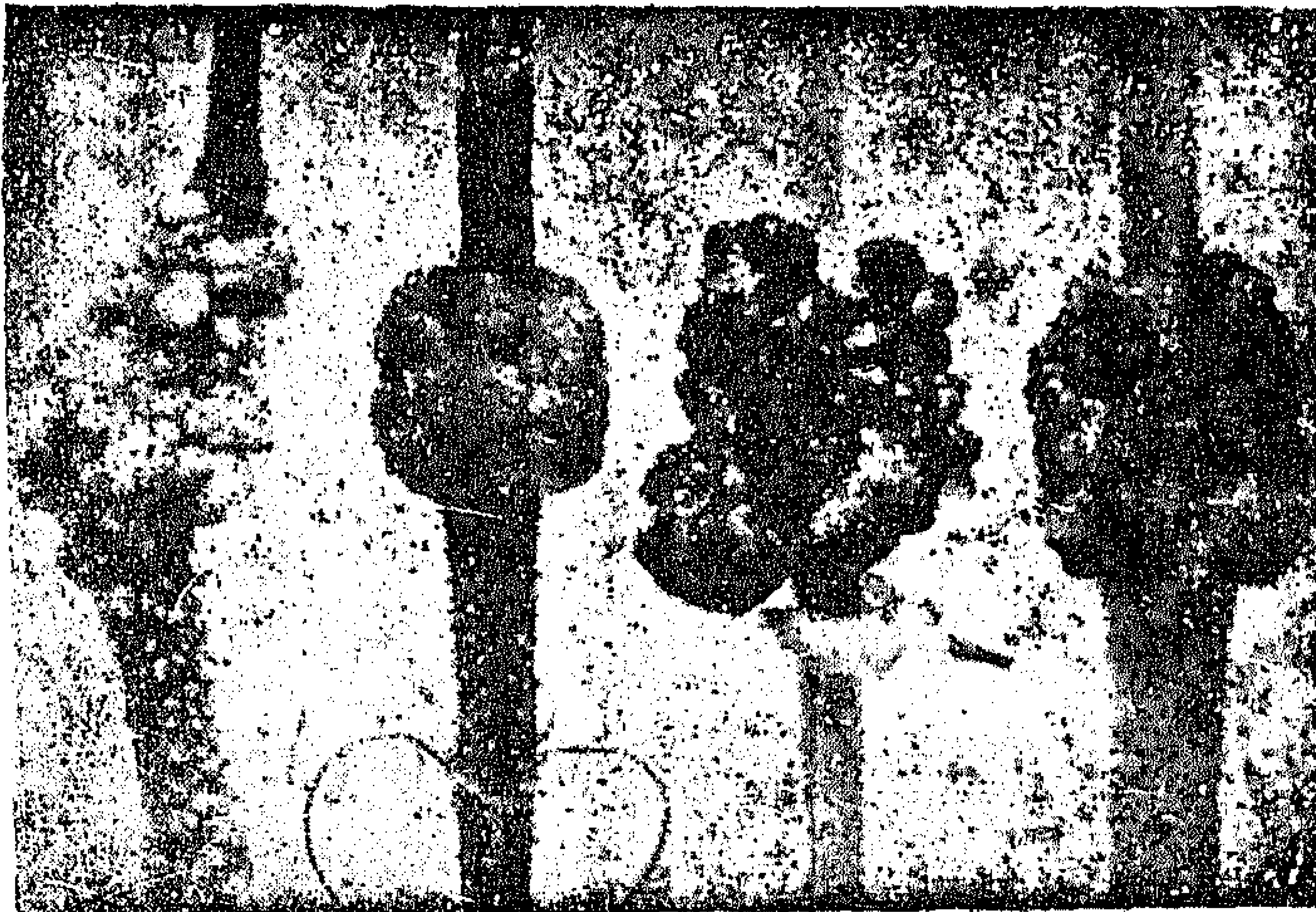
جنس — *Agrobacterium*

تتميز أنواعه بخلايا عصوية قصيرة . متحركة عن طريق ١ — ٤ أسواط جسمية (شكل ١٥٢) . سالبة لصبغة جرام ، عندما تنمو على بيئات عضوية محتوية على سكريات لاتكون أحماضا ولاغازات . عندما تنمو على بيئات تركيبية (غير عضوية) فى وجود السكريات قد تكون غازات وأحماض. ليس لها قدرة على تحليل البروتينيات (لاتسيل الجيلاتين) لاتثبت الآزوت الجوى . تستعمل النترات أو الأمونيا كمصدر للآزوت . تتراوح درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٢٥ — ٣٠°م . تعيش بالتربة أو على جذور النباتات.

بعض الأنواع تسبب اعراضا مرضية مميزة تظهر بشكل تورمات أو انتفاخات كبيرة (شكل ١٥٣ (مثل النوع *Agrobacterium tumefaciens* أو تصيب الجذور مسببة زيادة فى تكوين الجذور العرضية الليفية مثل النوع *Agro. rhizogenes* وهناك أنواع خمس أخرى غير ممرضة للنباتات ولكنها تعيش بالتربة معيشة ترممية .



شكل ١٥٢ : لوحة تبين خلايا أنواع الجنس *Agrobacterium* (أ ، ب) *Agro. tumefaciens* (جـ) *Agro.rhizogenes* أسواط جسمية أقصر منها فى النوع السابق (د) *Agro. racidicola* (هـ، و) *Agro. pseudstuga* أسواط قليلة ذات موجات طويلة نسبيا (ز) . *Agrobacterium* sp.



شكل ١٥٣ : سوق بعض النباتات تكونت عليها تورمات مرضية نتيجة لعدواها صناعياً بالبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* .

العائلة الرابعة Family *Halobacteriaceae*

عصويات أو كرويات تحتاج إلى تركيز عالى من كلوريد الصوديوم لكى تنمو . التكاثر عن طريق الإنفلاق العرضى . لا توجد جراثيم داخلية . الجدار الخلوى لايحتوى على diaminopimelic acid أو الـ muramic acid ومعظم الجدار من بروتين ودهون lipoprotein . سالبة لجرام . التغذية Chemoorganotrophic الميثابوليزم تنفسى ولا يكون تخمرى . تحصل على الطاقة من الأحماض الأمينية . المعلومات قليلة عن إستعمال الكربوهيدرات . تحتوى على كاروتينات وأساسا teriorubeiin. المستعمرات ذات ألوان مختلفة ، حمراء أو وردية أو برتقالية محمرة توجد عند توفر ص كل وغيرها من الأيونات اللازمة فى تركيزات مناسبة . مثل الملاحات والبحيرات المالحة والمملحات مثل السمك واللحوم المملحة ويتبعها جنسين هما *Halobacterium* و *Halococcus*

وتوجد بعض الأجناس التى لم تحدد بعد درجة قرابتها إلى أحد العائلات تنتمى إلى الجزء السابع مثل الأجناس *Alcaligenes* و *Brucella* و *Acetobacter*

جنس — *Alcaligenes*

أنواعه تتميز بانتاج مواد ملونة تتراوح بين البنى المصفر والرمادى المائل إلى الاصفرار . تختزل لبن عباد الشمس litmus milk محدثة تأثيرا قلويا (لونا أزرق) . لاتستعمل السكريات كمصدر للطاقة لاتكون أحماضا ولاتسيل الجيلاتين . أهم أنواعه *Alcaligenes faecalis* الذى يتواجد فى القنوات الهضمية للفقريات ويوجد ملوثا لمنتجات الألبان .

جنس — *Acetobacter*

ويشمل سبعة أنواع ، منها أنواع هامة فى صناعة الخل مثل *Acetobacter-xylenum* وكذلك *Acetobacter aceti* أفراد هذا الجنس تتراوح أشكالها

المورفولوجية بين البيضية الشكل والعصوية . وتتواجد مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل . وتظهر الخلايا بأشكال مختلفة pleomorphic types أثناء دورة نموها . بعضها متحرك والبعض الآخر غير متحرك . الخلايا الحديثة السن تكون سالبة لصبغة جرام . عادة تكون هوائية إجباراً و يمكنها أكسدة عديد من المواد العضوية مكونة أحماضا . ومن أهم التفاعلات التى تقوم بها أكسدة كحول الايثايل إلى حمض خليك وقد استغلت هذه الظاهرة فى الصناعة لانتاج الخل . يتميز أفراد هذا الجنس وبخاصة تلك المنتجة للخل مثل *A. xylenum* بتكوين غشاء سطحى مكون من السليلوز يشبه كثيرا السليلوز النباتى .

جنس — *Brucella*

يشمل عصويات صغيرة تتراوح أحجامها بين ٠,٥×٠,٥—٢ ميكرون وقد تبدو أحيانا بشكل كرويات . ذات غلاف مميز . غير متحركة . لا تسيل الجيلاتين لاتنتج غازات عند تخمير الكربوايدرات . تحلل اليوريا . طفيليات حيوانية تصيب الأجهزة التناسلية والغدد الثديية وكذلك الأجهزة التنفسية والهضمية للحيوانات الاقتصادية والانسان وتعرف الحالات المرضية الناتجة عن هذه البكتيريا Brucellosis وهذه التسمية تشمل مرض الحمى المالطية الذى تسببه كل من البكتيريا *Brucella melitensis* و *Br. suis* فى الأنسان ومرض الاجهاض المعدى فى الماشية والذى يسببه *Br. abortus*

الجزء الثامن

العصويات غير الهوائية إختيارا والسالبة لجرام

Gram - Negative Facultatively Anaerobic Rods

العائلة Family *Enterobacteriaceae*

درست أجناس هذه العائلة بدرجة أكبر من غيرها من العائلات ، حيث أنها تشمل كثيرا من الأجناس ذات الصلة الوثيقة بحياة الانسان . عصويات

مستقيمة متحركة عن طريق الأسواط الجسمية . تنمو هذه البكتريات جيدا على البيئات الغذائية . ويمكنها تخمير كثير من السكريات مع انتاج أحماض وغازات (يد ٢ ك ا ٢) . تميز الأجناس المختلفة تبعا لقدرتها على تخمير سكر اللاكتوز وكذلك تبعا لنوع المواد الناتجة عن هذا التخمر . لاجناسها القدرة على اختزال النترات إلى نتريت فيما عدا جنس *Erwinia* . تعيش أفراد هذه العائلة فى القنوات الهضمية للانسان والحيوان دون أن تسبب أعراضا مرضية . كما أن بعضا منها قد تسبب أمراضا للانسان والحيوان والنبات . الكثير من أفراد هذه العائلة رميات تعيش على البقايا العضوية بالتربة . تقسم هذه العائلة إلى فصائل Tribes على أساس قدرة أفرادها على تخمير سكر اللاكتوز وكذلك على أساس قدرتها على تحليل اليوريا واستعمال حمض الستريك كمصدر للكربون :

١ — **فصيلة** Tribe 1 - *Eschericheas* تشمل الأجناس ذات القدرة على تخمير سكر اللاكتوز مكونة أحماضا وغازات خلال ٢٤ ساعة على درجة ٣٧°م أو خلال ٤٨ ساعة على درجة ٢٥° — ٣٠°م . تستعمل حمض الستريك أو أملاحه كمصدر للكربون . وتشمل هذه الفصيلة الأجناس التالية :

جنس — *Escherichia*

يعتبر النوع المثالى منه *Esherichia coli* أكثر البكتريات دراسة وهى عضويات متحركة عن طريق اسواط جسمية (شكل ١٥٤) سالبة لصبغة جرام هوائية اختيارا . تخمر الجلوكوز واللاكتوز مع انتاج أحماض وغازات (يد٢+ك١٢ بكميات متساوية) . كما أنها لاتكون المركب المتعادل استيل ميثيل كاربيول (راجع التحولات الايضية للكربوايدرات) . أنواع هذا الجنس تعطى تفاعلا موجبا مع اختبار أحمر الميثيل — لاتستعمل حمض اليوريك Uric acid كمصدر وحيد للنيتروجين . تنتج الاندول . تتواجد فى الأمعاء الغليظة للانسان ويمكن عزلها من البراز أحيانا . تسبب أمراضا للانسان عندما

تتواجد باعداد كبيرة جدا مثل مرض الالتهاب البريتونى peritonitis ومرض البواسير والناسور cystitis

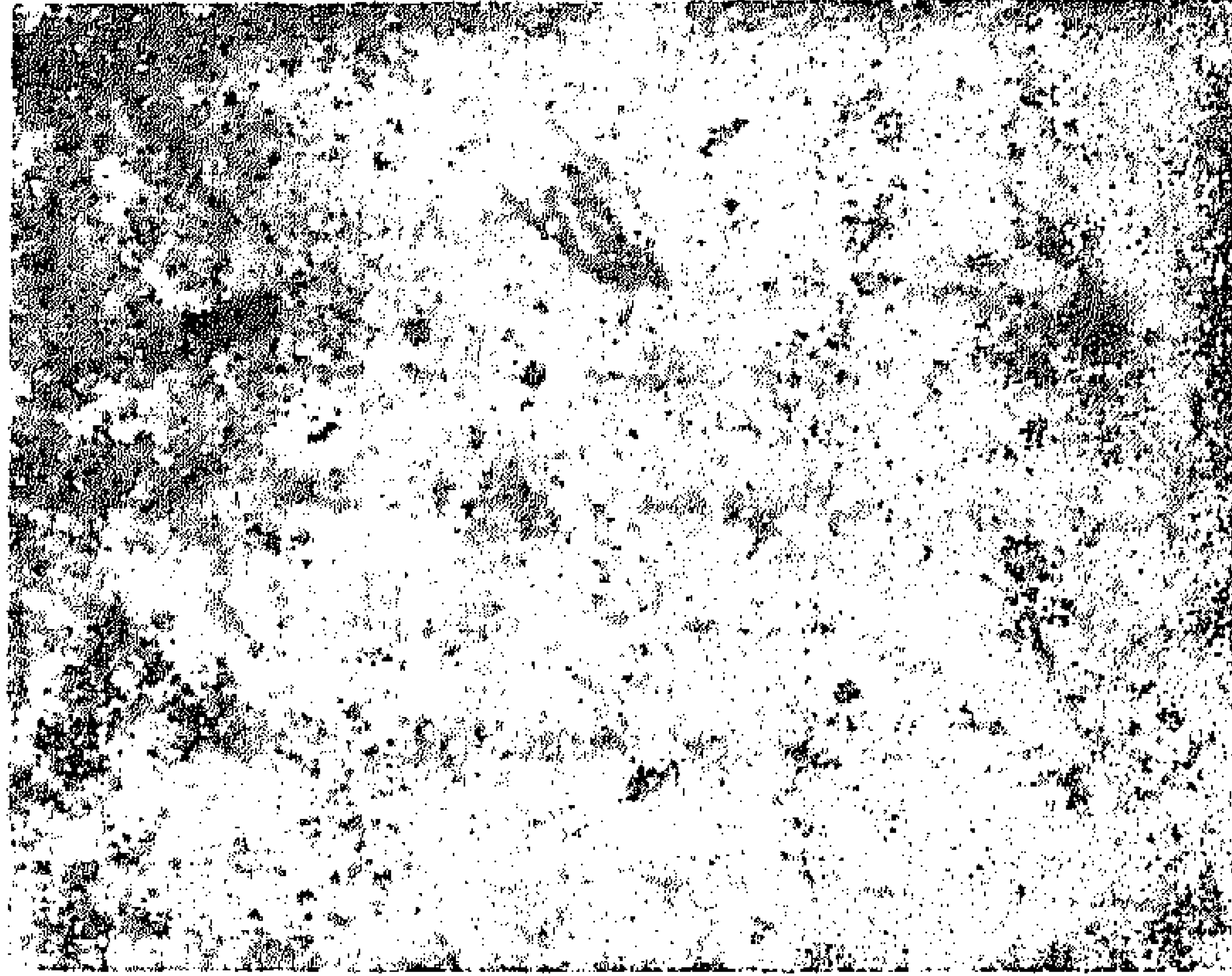


شكل ١٥٤ : لوحة تبين خلايا من جنس *Escherichia* (ا) سلالة من البكتيريا *Escherichia coli* ، (لاحظ الأسواط الجسمية ذات المظهر العادى كما يلاحظ قلة عدد الأسواط على الخلية وهى صفة مميزة لأفراد هذا الجنس . (ب) سلالة من نفس البكتيريا تبين مواضع الأسواط الملتفة . (ج) سلالة من نفس البكتيريا تبين الأسواط الجسمية العادية التموج والقليلة العدد . (د ، ه) *Escherichia Freundii* (د) — خلية خيطية تحمل أسواطاً جسمية غير عادية التموج (ه) أسواط جسمية عادية التموج .

جنس — *Salmonella*

عصويات متحركة بأسواط جسمية (شكل ١٥٥) . لاتسيل الجيلاتين. لاتنتج الاندول . تكون غاز كبريتور الايدروجين أولاتكونه variable test. تكون أحماضا فقط عند تخميرها للسكريات فيما عدا سكر اللاكتوز والسكروز (السكريات الثنائية) . لاتكون المركب المتعادل استيل ميثيل كاربينول . وبالتالى فهى موجبة لاختبار أحمر الميثيل . تستعمل السترات كمصدر للكربون. تختزل النترات إلى نيتريت . لاتحلل اليوريا . ومن أنواعها :

Salmonella typhosa المسبب للحمى التيفودية



شكل ١٥٥ : لوحة لبعض خلايا من جنس *Salmonella* (ا ، ب ، ج) خلايا *Salmonella typhimurium* ففى (ا) تظهر أسواط عادية التموج ، (ب) تظهر أسواط ذات موجات قصيرة (ج) يظهر ظاهرة biplicity (د) *Salmonella typhosa* أسواط جسمية عادية (هـ ، و) *Salmonella wichita* (هـ) أسواط جسمية عادية (و) سلالة ذات أسواط كثيرة التموج .

Salmonella Schottmuelleri *Salmonella paratyphi* *Salmoneliia hirschfaldii*	مسئولة عن حدوث الحمى البارانيفودية
Salmonella typhimurum	يسبب اعراضا تسممية حادة

جنس — *Shigella*

أنواعه عصويات متحركة بأسواط جسمية . يتميز عن أنواع *Salmonella* فى عدم قدرتها على انتاج غاز كربتور الايدروجين . تنتج أولا تنتج الاندول لا تسيل الجيلاتين . تشبه أنواع الجنس السابق فى عدم قدرتها على مهاجمة اللاكتوز إلا أن بعض أنواعه تهاجمه وتخمره ببطء شديد ، وكذلك تشبهها فى عدم تكوينها للمركب المتعادل استيل ميثيل كاربنول ، وفى قدرتها على اختزال النترات إلى نيتريت . كائنات ممرضة تلوث الأطعمة والمياه . تسبب حالات مرضية توصف بالـ Shigellosos .

Shigella dysenteriae أو *Shigella shiga* تسبب مرض الدوسنتريا الباسيلية Bacillary dysentery

جميع الأنواع تعيش فى أجسام الحيوانات ذات الدم الحار .

٢ — الفصيلة : Tribe *Klebsielle$_a$*

عصويات قصيرة . ذات نهايات مستديرة تتواجد منفردة باستمرار ، ذات غلاف capsule سميك . تعيش معيشة هوائية . تخمر السكريات أحيانا الا أن نتائج تخمرها متغيرة variable وليست ثابتة ، قد تنتج أولا تنتج المركب المتعادل scetyl methyl carbinol أو الاندول . تختـزل النترات إلى نيتريت تتواجد أنواعه فى الأجهزة الهضمية والتنفسية والبولية ، التناسلية للانسان والحيوان . ومن أهم أنواعه *Klebsiella pneumonia* .

٣ — الفصيلة : Tribe *Proteeae*

أفراد هذه الفصيلة لاتخمر اللاكتوز اطلاقا (خلال ٣٠يوما على درجة ٣٠°م أو ٢٥°م) ، كما أنها لاتحلل اليوريا خلال ٤٨ ساعة ، هذا علاوة على اشتراكها فى الصفات المورفولوجية المميزة للعائلة. رميات تتواجدبالتربـة وبالهواء وفى المياه. بعضها قد يسبب أمراضا للأجهزة البولية والتناسلية أو الهضمية تشمل هذه الفصيلة جنسا واحدا هو :

جنس — *Proteus*

أنواعه تحمل أسواطا جسمية (شكل ١٥٦) وذات قدرة على تكوين مستعمرات أميبيةالشكل ذات حواف غير منتظمة تنتشر بسرعةعلى



شكل ١٥٦ : لوحة لبعض الخلايا التابعة للجنس *Proteus* (أ) *Proteus mirabilis* أسواط مثالية للجنس جسمية عادية التموج (ب) *Proteus morganii* خلية ذات سوط واحد جسمى مختلف التموج (ج) *Proteus-mirabilis* أسواط جسمية عديدةشديدة التموج لاحظ أن أحد لأسواطذو تموج عادى فى حين ان باقى الأسواط شديدة التموج . (د) سلالة ذات خلايا خيطية من البكتيريا *Proteus-mirabilis* تحمل عدة أسواط جسميةعادية التموج.

سطح الآجار لتغطى السطح بأكمله فى فترة وجيزة تخمر الجلوكوز ولكنها لاتخمر اللاكتوز والنوع المثالى *Proteus vulgaris* ينطبق عليه أوصاف الجنس. وقد وجد تشابه فى التركيب الانتيجينى بين بعض سلالات هذا النوع ، والريكيتزيا المسببة للحمى التيفوسية .

٤ — الفصيلة : Tribe *Yersinieae*

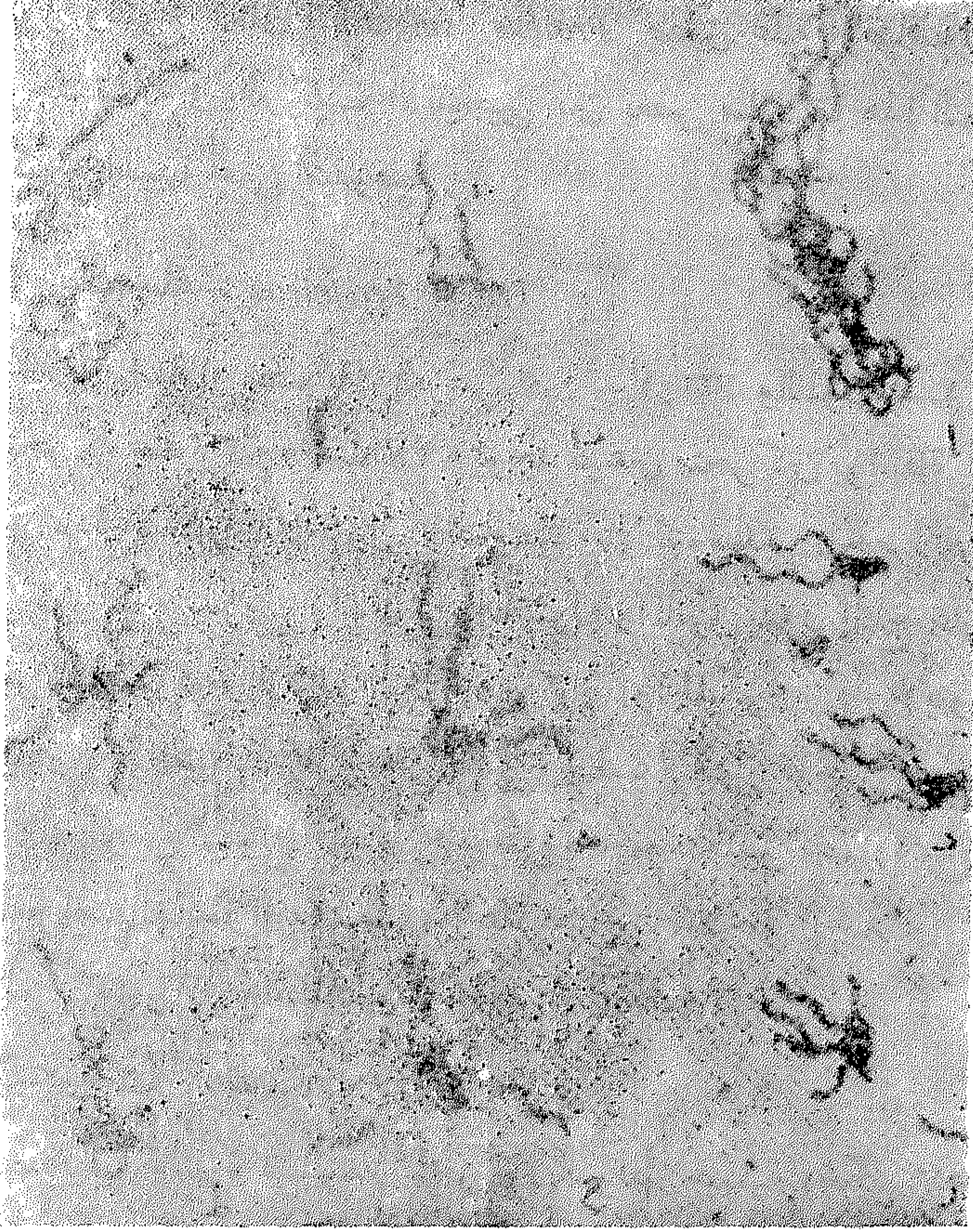
الخلايا بيضية أو عصوية . العرض ٠,٥ — ١ μm والطول ١—٢ μm غير متحركة عند ٣٧°م وتحت ٣٧°م يوجد نوعين متحركين بواسطة أسواط محيطية عادة لاتخمر اللاكتوز. وتنتج بيتا جالاكتوسيديز . تخمر الفركتوز والجلوكوز والجليسرول والمالتوز والمانيتول والمانوز بدون إنتاج غازات . لا تخمر الدلستيول والإيريثريتول وفيوكوز والجليكوجين والاينوزيتول والزافينوز . موجب لإختبار أحمر الميثيل وسالب لإختبار فوجس بروسكاور عند ٣٧°م لبعض الأنواع . تنمو جيدا على آجار مستخلص اللحم (١ — ٢يوم) لاتستطيع إستعمال السترات كمصدر وحيد للكربون . لاتحلل الجيلاتين لاتنتج الاندول . تنتمى إلى هذه المجموعة الجنس *Yersinia*

٥ — الفصيلة : Tribe *Erwiineae*

عصويات قصيرة مستقيمة متحركة بأسواط جسمية (شكل ١٥٧) . تهاجم سكر اللاكتوز والجلوكوز مكونة احماضا وغازات وأحيانا أحماضا فقط . طفيليات نباتية تتميز بمهاجمتها للصفائح الوسطية (بكتات الكالسيوم) التى تربط الخلايا النباتية ببعضها وتؤدى إلى حدوث نوع من الأعفان للانسجة يعرف بالعفن الطرى ، وتشمل الفصيلة جنسا واحدا هو :

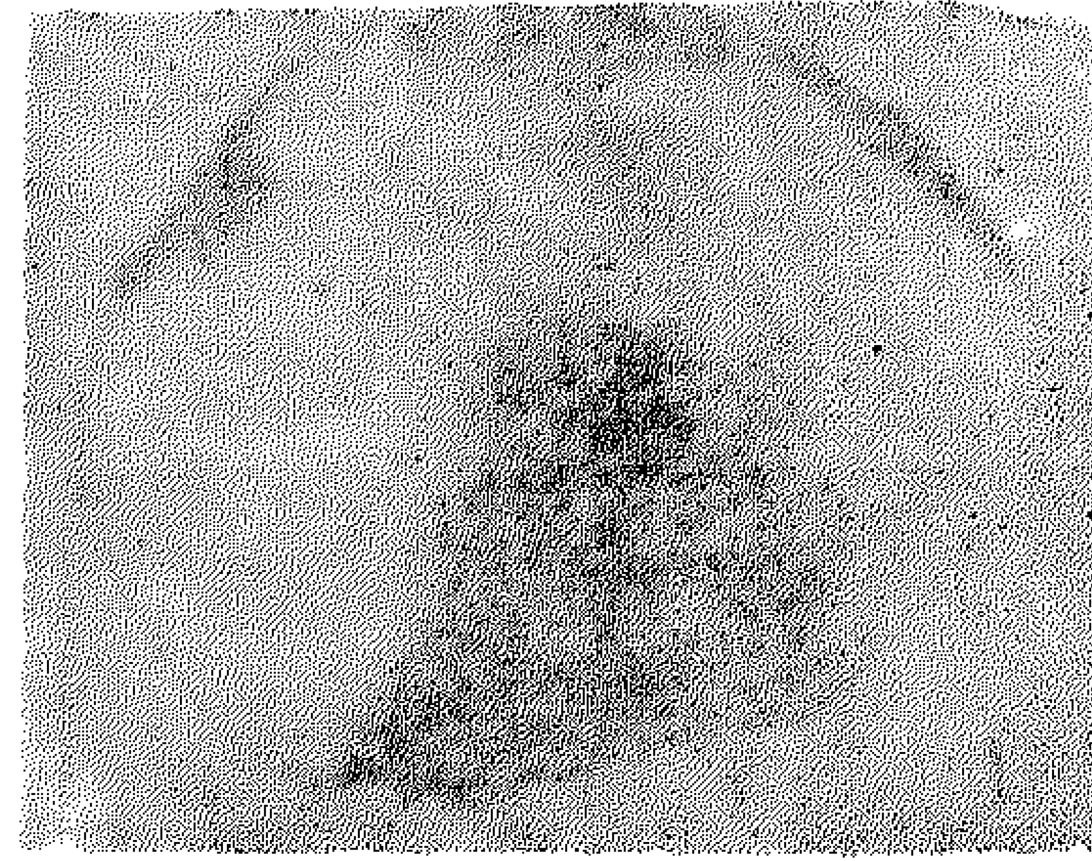
جنس — *Erwinia*

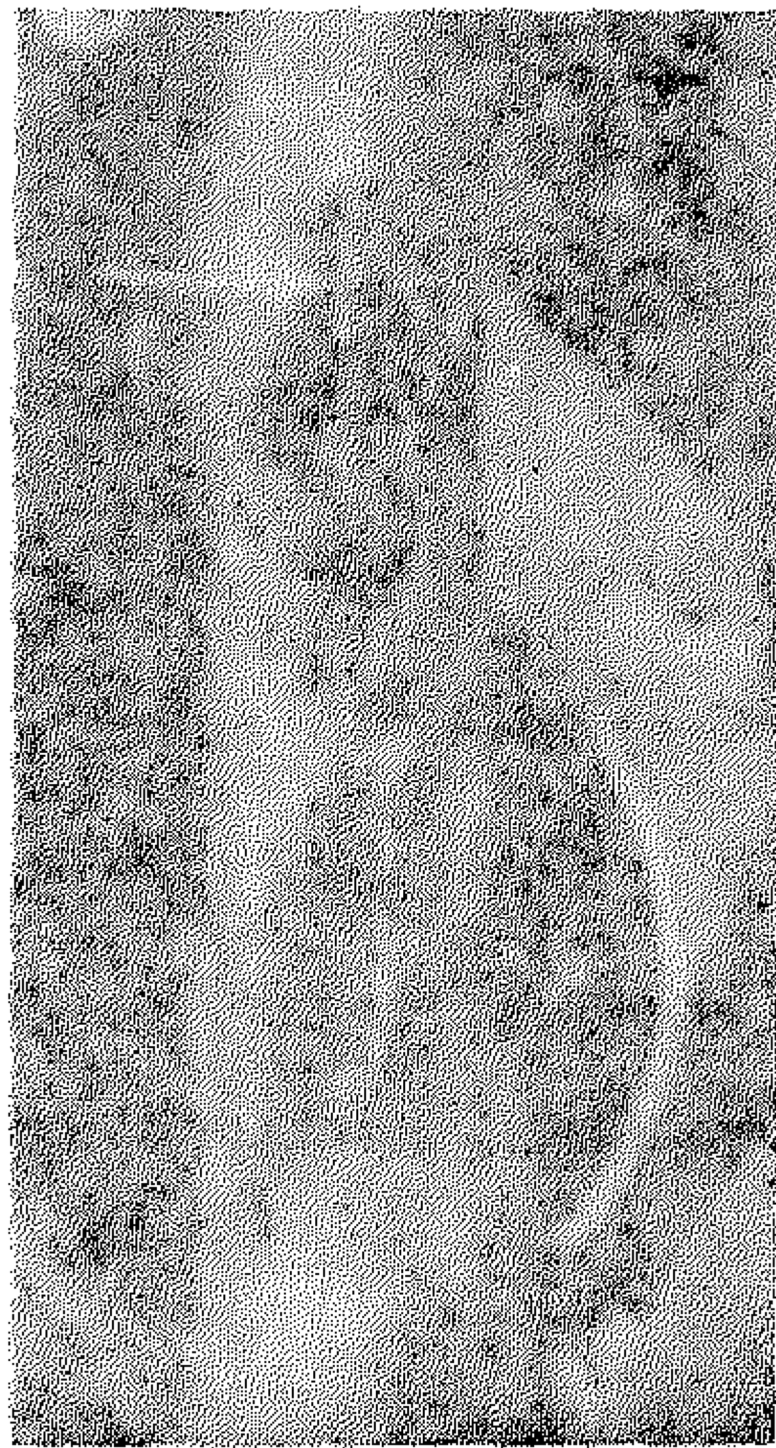
ينطبق عليه صفات الفصيلة . عادة لاتتطلب أفراده نيتروجيناعضويا للنمو. بعض الأنواع تخمر عددا محدودا من السكريات مع انتاج حمض وغاز أو حمض فقط . فمثلا بعض الأنواع لايمكنها تخمير سكر اللاكتوز. قدتسيل



شكل ١٥٧ : لوحة تبين خلايا من جنس *Erwinia* (ا ، ب ، ج) خلايا البكتيريـا *Erwinia amylovora* ، ١-أسواط جسمية ب -- تسوط شاذ نوعاً أسواط عادية وأخرى كثيرة التموج على الخليه الواحدة ج - أسواط ملتفة coiled *E. salicis* (د) *Erwinia* sp, أسواط جسمية عادية (د) *Erwinia* sp. معزول من أشجار الجوز Wall nut أسواط جسمية عادية (و)*E. latheryi* أسواط جسمية عادية (ز ، ح) *E. carotouora* أسواط جسميـة عادية الا أن النموذج (ح) يبين خليط من أسواط عادية وأخرى موجة وهذه حالة شاذة . (ط) *E.chrysanthemi* يظهر هذا النوع أسواط ملتفة coiled وأخرى موجة .

الجيلاتين أو لاتسيله . تهاجم أنواعه الأنسجة النباتية الحية وتكون حـــالات مرضية نتيجة لموت بعض خلايا الأنسجة أو قد تسبب ذبولا أو تقرحـــات النباتات المصابة بها (شكل ١٥٨ـــب) أو تحدث تعفنا طريا (شكل ١٨٥ أ) . وفى الحالة الأخيرة تتميز البكتيريات المسببة المرض بإنتاج انزيمات بكتينية Pectin depolymenase أو pectin Polygalacturonase أو pectin Methylestrase أو Protopectinase ويقـــال أن الأنزيم الأخير هو خليط من كـــل الانزيم الأول والثانى .





شكل ١٥٨ : (أ) قطاع فى درنة بطاطس مصابة بالتعفن الطرى نتيجة للاصابـــة بالبكتيريا *Erwinia caratovera*
(ب) فرع من شجرة كمثرى يظهر عليه التقرح نتيجة لاصابته بالبكتيريا *Erwinia amylovora*

من الأنواع الهامة لهذا الجنس *Erwinia caratovore* : المسببه لمرض التعفن الطرى لكثير من ثمار الخضر والفاكهة و *Erwinia amylovora* : المسببة لمرض اللفحة النارية للتفاح والكمثرى و *Erwinia aeroideae* المسببة لمرض التعفن الطرى لثمار الخضر والفاكهه و *Erwinia atroceptica* المسببه لمرض الساق الاسود فى البطاطس Black leg of potato .

العائلة Family *Vibrionaceae*

عصويات صلبة . سالبة لجرام مستقيمة أو منحنية غالبا متحركة بواسطة سوط طرفى ولكن بعض الخلايا قد تمتلك بالإضافة إلى ذلك أسواط جانبية

تنتج تحت ظروف معينة من النمو . التغذية Chemooıganotrophic . الميتابوليزم تخمرى وتنفسى . موجبة للأوكسيديز . بعض الأنواع تنتج butylene glgcol من الجلوكوز . البعض الآخر تحلل البروتين وبعضها تنتج الأندول . غير هوائية إختيارا . غالبا توجد فى المياه العذبة أو مياه البحار وقد توجد فى الأسماك أو الانسان . من الأجناس التى تتبع هذه العائلة *Vibrio* و *Aeromonas* بعض أفراد هذه العائلة ممرضة للإنسان والحيوانات . فمثلا

البكتيريا *Vibro comma* تسبب مرض الكوليرا فى الانسان . والبكتيريا *Vibrio feus* تسبب الإجهاض المرضى فى الأغنام والماشية (شكل ١٥٩) .



شكل ١٥٩ : لوحة تبين خلايا تابعة لجنس *Vibrio* لاحظ احتواء الخلية على الخناة واحدة والأسواط الفردية(أ ، ب) خلايا *Vibio* sp. (جـ)*Vibrio comma* (د)*Vibrio proteus* (د) *Vibrio fetus*

وتوجد بعض الأجناس التى لم تحدد بعد درجة قرابتها لإحدى العائلات وتنتمى إلى الجزء الثامن مثل *Chromobacterium* *Haemophilus* و *Flavo bacterium* و *Pasteurella*

جنس — *Chromobacterium*

عندما تنمى فى البيئات الصناعية تفرز صبغة بنفسجية لاتذوب فى الماء أو الكلوروفورم تنمو بالبيئات الغذائية المحتوية على سكريات (جلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز) مكونة أحماضا فقط . تسيل الجيلاتين ولاتكون الاندول تختزل النترات إلى نيتريت . درجة الحرارة المثالية لنموها تتراوح بين ٢٠—٢٥°م

وبعض انواعها يفضل درجة ٣٧°م . أنواعها مترممة تعيش بالماء أو بالتربة .

جنس — *Flavobacterium*

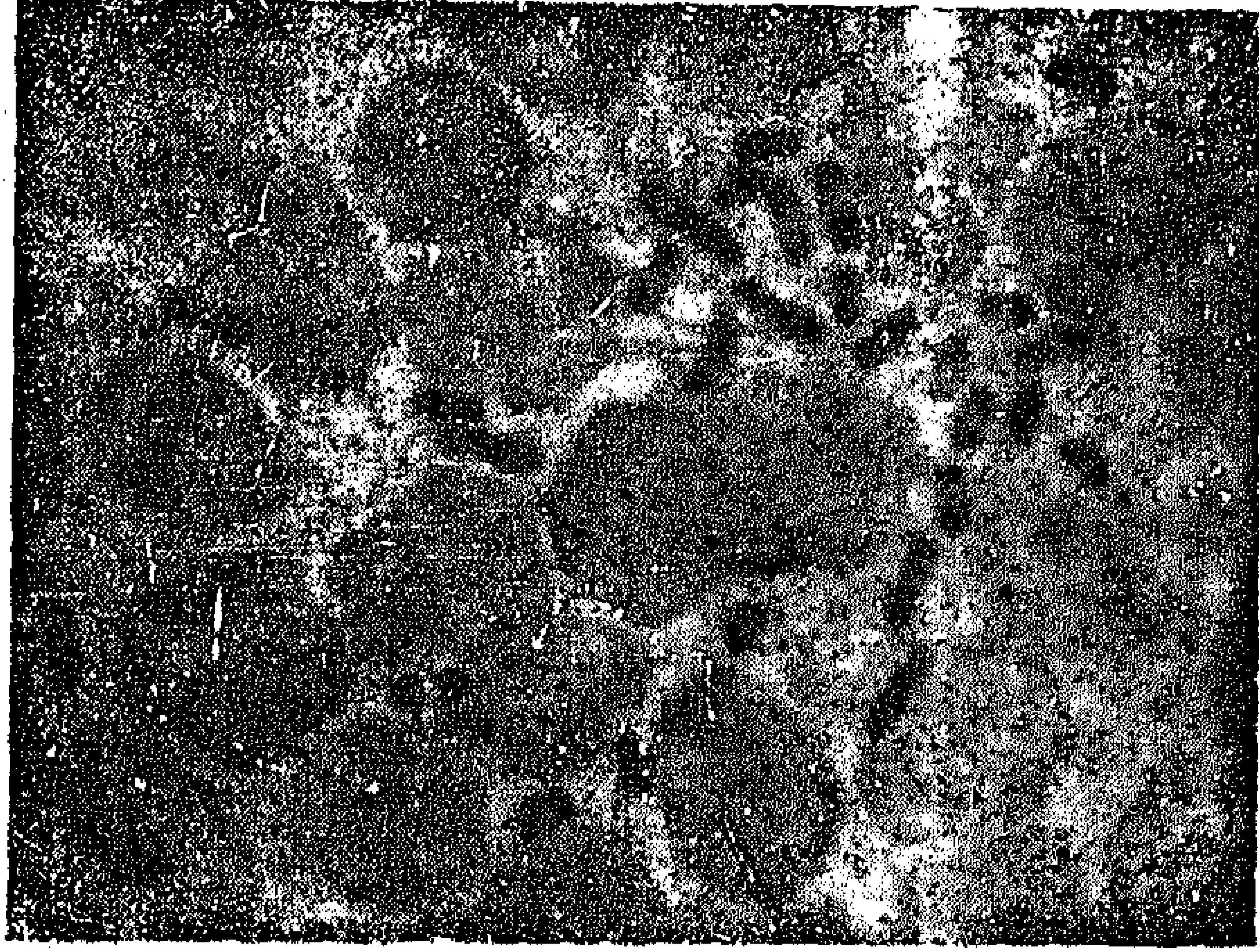
تكون أنواعه صبغات حمراء أو صفراء . تؤثر على لبن عباد الشمس محدثة تأثيرا حمضيا بدون تخثر . الا أن بعض الأنواع لاتؤثر على لبن عباد الشمس كما أن البعض الآخر يحوله إلى قلوى .

جنس — *Haemophilus*

يشمل كائنات دقيقة جدا . عصوية صغيرة تتصل ببعضها أحيانا لتكون خيوطا كما أنها تظهر اختلافات مورفولوجية plcomorphic . طفيليات اجبارية الا أنه يمكن تنميتها أحيانا فى البيئات الغذائية بعد اضافة عوامل نمو معينة اليها . تتواجد فى تقرحات أو افرازات الحيوان المصاب . كما تتواجد أيضا فى الأجهزة التنفسية السليمة للفقريات . النوع المثالى للجنس *Haempophilus infruenzae* كان يظن أنه المسبب الحقيقى لمرض الانفلونزا . الا أنه حاليا يعتبر بكتيريات مرافقة للمسببات الحقيقية للانفلونزا وهى فيروسات فى حالات الاصابة الشديدة بالمرض .

جنس — *Pasteurella*

أنواع هذا الجنس تتميز بخلايا صغيرة تتراوح بين البيضيـة والعصويـة القصيرة . عندما تصبغ بطرق خاصة تظهر الصبغة بطرفى الخلية ـ bipolar staining . لاتسيل الجيلاتين . لاتجبن اللبن . معظم الأنواع تخمر السكريات وتكون نسبة بسيطة من الأحماض فيما عدا اللاكتوز الذى تخمره بنسبة بسيطة دون انتاج غازات . هوائية . بعض الأنواع غير هوائية اختيارا . طفيليات للانسان والحيوان والطيور ومن أهم أنواعه *Pasteurella pestis* المسببة لمرض الطاعون فى الانسان والماشية (شكل ١٦٠) . وهناك أنواعا أخرى مثل *P. multocida* وهى تعيش معيشة رمية اختيارا كما يمكنها أن تتطفل على عديد



شكل ١٦٠ : خلايا البكتيريا *Pasteurella pestis* كما تظهر فى غشاء مثبت ومصبوغ من دم فأر مصاب بالطاعون . متوسط حجم الخلية ١ × ٢ ميكرون . لاحظ الاصطباغ عند طرفى الخلية bipolar staninig .

من الحيوانات أحيانا . وهى منتشرة بكثرة فى جميع أنحاء العالم وهى تصيب الطيور مسببة مرض الكوليرا فى الدواجن fowl cholera ، كما أنها تصيب الأرانب ، والخنازير مسببة أمراضا مختلفة الأعراض . وخلايا هذا النوع ، أصغر حجما من النوع الأول حيث يتراوح حجمها بين ٣,٠ — ١,٣ × ١٥,٠ — ٢٥,٠ ميكرون . غير متحركة . تتميز أيضا بالاصطباغ الطرفى (bipolar).

وهناك نوع آخر هو *P. pseudotuberculosis* يمكنه أن يحدث أمراضا معدية للدواجن . وأحيانا يمكنها عدوى الحيوانات الثديية بما فيها الانسان تحدث الاصابة بها عن طريق الفم أو عن طريق الحشرات الثاقبة الماصة للدم . وأعراض المرض قد تبدو شبيهة بمرض السل إلا أنها تكون مصحوبة باسهال . خلايا هذا النوع تظهر الاصطباغ الطرفى ، وهى ذات مقاسات كبيرة نوعا ٥,٠ × ١,٥ — ٥ ميكرون مفردة أو فى سلاسل تحمل أسواطا جسمية .

الجزء التاسع

البكتيريا غير الهوائية والسالبة لجرام Gram-Negative Anaerobic Bacteria

العائلة Family *Bacteroidaceae*

تعتبر هذه العائلة تجميعا لكائنات بكتيرية مختلفة من الناحية المورفولوجية

بعضها متعرف عليه والبعض الآخر غير معرف . عصويات سالبة لجرام لاتكون جراثيم داخلية .

جنس — *Bacteroides*

يشمل هـــذا الجنس الأنواع العصوية ذات الأطراف المستديرة والتى تتواجد خلاياها مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل قصيرة . أحيانا تظهر اشكالا مورفولوجية مختلفة Plcomorphic . بعض الأنواع ذات غلاف . بعضها متحرك والبعض الآخر غير متحرك ، والأنواع المتحركة تحمل أسواطا جسمية. بكتيريات غير هوائية ، قد تخمر أو لاتخمر الجلوكوز الا أن كل الأنواع ، لايمكنها تخمير السكريات الثنائية كاللاكتوز أو السكروز . لاتختزل النترات إلى نيتريت ، ولكنها تكون غازات عندما تنمو فى بيئات تحتوى على البيتون . تتواجد فى القنوات الهضمية فى الأجهزة البولية والتناسلية للانسان . بعضها تسبب أمراضا . النوع المثالى *Bacteroides fragilis*

جنس — *Fusibacterium*

يشمل بكتيريات عصوية مستقيمة أو منحنية ذات أطراف مدببة أو مسحوبة . تتواجد مفردة أو فى أزواج أو فى سلاسل . بعض أنواعها متحرك والبعض الآخر غير متحرك . الأنواع المتحركة تظهر حركة اهتزازية عند الطرفين وهذا لايعنى انها تحمل أسواطا طرفية . تحتوى خلاياها على حبيبات واضحة وحيث أن هذه البكتيريات سالبة لجرام فان وجود الحبيبات وقابليتها للاصطباغ بدرجة كبيرة قد تجعل الخلايا تبدو وكأنها موجبة لصبغة جرام عندما تنمو على البيئات الغذائية الصلبة المقواه تعطى مستعمرات زبدية القوام Butyrous غير متجانسة cloudy مرتفعة ولزجة مستديرة كاملة الحافة عندما تعلق خلاياها فى الماء تعطى لونا أبيض متغيرا . ذات مطالب نمو معقدة غير هوائية محدودة القدرة المرضية على الانسان والحيوان . تتواجد فى الفم دون أن تحدث امراض . نوعها المثالى *Fusobactevium Fusiforme*

ويوجد عدد من الأجناس التى تحدد بعد درجة قرابتها لإحدى العائلات وتنتمى إلى الجزء التاسع وهى *Succimimonas* و *Desulfovibrio* و *Butyrivibvio* و *Lachnospira* و *Selenomonas* و *Succinivibrio* (شكل ١٦١)



شكل ١٦١ : لوحة تبين بعض الخلايا التابعة لجنس *Selenomonas* ذات الخلايا المنحنية وتتوزع عليها الأسواط بطريقة غير عادية (أ ، ب ، جـ) *Selenomonas ruminatium* معزولة من كرش الحيوانات المجترة ، تحمل الأسواط على الناحية المقعرة من الخلية . (د ، هـ) خلايا من نفس البكتيريا وهى على وشك الانقسام ، لاحظ بدء تكوين الأسواط ، (و) *Selenomonas suptigenum*

الجزء العاشر

بكتيريا كروية أو عصوية كروية وسالبة لجرام

Gram — Negative Cocci and Coccobacilli

العائلة Family *Neisseriaceae*

الخلايا كروية فى أزواج أو فى كتل أو عصويات فى أزواج أو فى سلاسل قصيرة . غير مسوطة . سالبة لجرام . بعض الأنواع تكون أصباغ

من Xanthophyll • بعض الأنواع تحتاج إلى إحتياجات غذائية معقدة بعد العزل مباشرة ولكن بإستمرار وجودها فى البيئة الصناعية يمكن أن تنمو فى بيئة بسيطة.معظم الأنواع تنتج الكاتالين وسيتوكروم أو كسيديز هوائية ومنها الجنس *Neissera*

جنس — *Neisseria*

خلايا كروية تتواجد فى أزواج مع تفلطح السطوح المتلاصقة للخلايا . سالبة لصبغة جرام . لها خمسة أنواع يمكنها افراز صبغات صفراء أو صفراء محضرة أو رمادية . الأنواع الأخرى لاتفرز صبغات . تنمو بضعف ملحوظ على البيئات الفقيرة غير المقواه ذات نشاط انزيمى محدود . يمكنها مهاجمة عدد قليل من الكربوايدرات . لاتنتج الاندول . لاتختزل النترات . تكون كمية كبيرة من انزيم الكاتاليز فهى بذلك هوائية وأحيانا غير هوائية اختارا . بعض الأنواع تحلل كرات الدم الحمراء haemolytic فهى طفيليات على الحيوانات . النوع المثالى *Neisseria gonorrhoeae* وتسبب حـالات مرضية تعرف بالسيلان . وكذلك *N. meningiisdi* الذى يسبب الإلتهاب السحائى .

الجزء الحادى عشر

الكرويات غير الهوائية والسالبة لجرام

Family Gram — Negative Anaerobic Cacci

العائلة . Famolg *Veillonellaceae*

كرويات توجد فى أزواج أو خلايا مفردة أو كتل أو سلاسل لاتكون جراثيم داخلية . غير متحركة وغير مسوطة . سالبة لجرام . التغذيـــة Chemoorg anotrophic. تحتاج إلى احتياجات غذائية معقدة.قد تخمر أولا

تخمر الكربوهيدرات . غير هوائية . سالبة لوجود السيتوكروم أوكسيديز والكاتاليز . ولكن بعض السلالات تحطم فوق الأكاسيد بواسطة pseudacatalase. متطفــلات على الحيــوانات ذات الدم الحار مثل الإنسان وغيره مــن الحيوانات . ومنها الجنس *Veillonella*

جنس — *Veillonella*

خلايا كروية صغيرة الحجم ذات قطر يتراوح بين ٣ر — ٤ر ميكرون . الخلايا تبدو غير مميزة حيث تكون مرتبطة ببعضها بمادة تفرزها الخلايا نفسها سالبة لصبغة جرام . تنمو جيدا على البيئات الغذائية العادية ذات نشاط انزيمى مرتفع . وهى عادة غير هوائية اجبارا . تعيش متطفلة فى فم الانسان وفى القنوات الهضمية وفى الأجهزة التنفسية والتناسلية للانسان وبعض الحيوانات الأخرى . النوع المثالى *Veillonella paruula* .

الجزء الثانى عشر

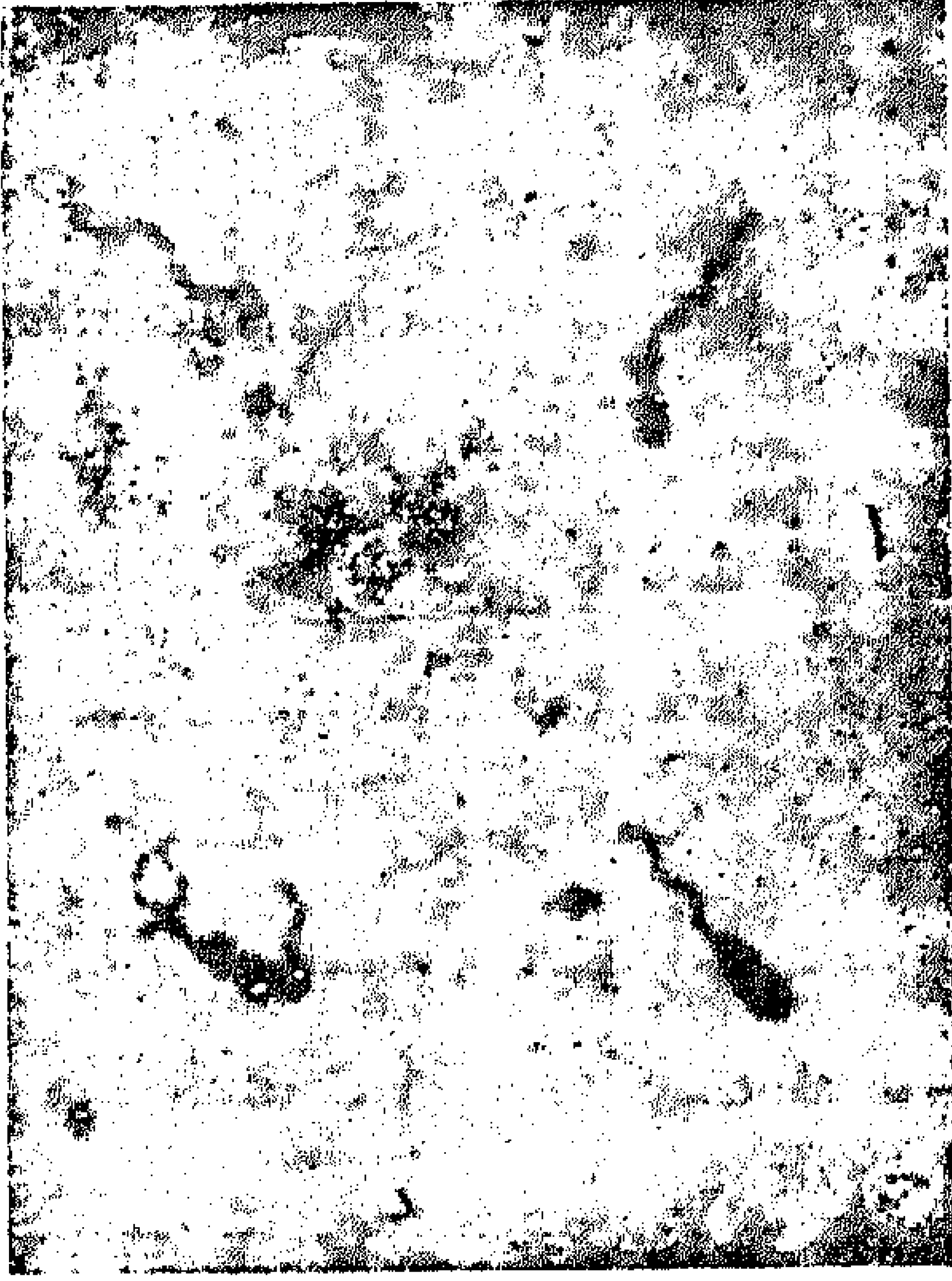
البكتيريا ذاتية التغذية إجبارا والممثلة كيماويا والسالبة لصبغة جرام

Gram — Negative Chemolithotrophic Bacteria

العائلة Family *Nitrobacteraceae*

تشمل بكتيريات التأزت Nitrifying bacteria وهذه تشمل أنواعا تختلف فى شكلها المورفولوجى بين العصويات والكرويات والحلزونيات .

وجميعها ذات أسواط طرفية غير متجرثمة سالبة لصبغة جرام . ومن الناحية الفسيولوجية تعتبر بكتيريات هوائية وغالبيتها ذاتية التغذية اجبارا . وكثير من المواد العضوية التى تتواجد بالبيئات الغذائية العادية تكون سامة لمثل هذه البكتيريات لذلك فهى تنمى وتعزل على بيئات غير عضوية كلية مثل بيئة السليكاجيل silca gel . وتقسم بكتيريا التأزت إلى مجموعتين مميزتين فيما يختص بطريقة حصولها على الطاقة .



شكل ١٦٢ : ا ، ب *Nitrosomonas europaea* ج ، د — بعض أنواع أخرى للجنس *Nitrosomanas* لاحظ الأسواط الطرفية المفردة monotrichous ذات الموجات الطويلة .

(ا) تلك التى تؤكسد الأمونيا إلى نيتريت nitrite مثل النوع *Nitrosomonas europaea* (شكل ١٦٢) *Nitrosomonas nitrosus*

(ب) تلك التى تؤكسد النيتريت إلى نترات مثل *Nitrobacter agilis* *Nitrobacter winogredskyi* شكل (١٦٣)

وعموما تتواجد بكتيريات التازت بالتربة حيث تلعب دورا هاما فى دورة النيتروجين كما سبق أن أوضحنا . وتشمل هذه العائلة ما يلى من أجناس .

Nitrosopira و *Nitrosoapira* و *Nitrobacter* و *Nitrococcus* و *Nitrosomanas* و *Nitosococcus* و *Nitrosolobus*



شكل ١٦٣ : خلية من البكتيريا *Nitrobacter agilis* لاحظ أنها تحمل سوطا واحداً جانبيا lateral monotriehous .

ويتبع الجزء الثانى أيضا البكتيريات التى تمثل الكبريت ومنها الأجناس :

Thiobacillus

و *Macramonas* و *Thiobacterium*

و *Thiavulum* و *Thiospira* و *Sulfolobus*

. أفراد هذه المجموعة لها القدرة على أكسدة الكبريت المختزل مثل

يد ٢ كب وكذلك الكبريت المعدنى مع تكوين كبريتات . ويمكن لحبيبات الكبريت أن تترسب داخل أو خارج الخلايا . وفيما عدا حالات شاذة قليلة تعتبر أفراد هذه المجموعة هوائية اجبارا وذاتية التغذية . وتعتبر البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* (شكل ١٦٤) من أكثر أفراد هذه المجموعة دراسة للتعرف على الفروق الفسيولوجية بين البكتيريات ذاتية التغذية وغير ذاتية التغذية . وهذه البكتيريا ذات قدرة على أكسدة الكبريت المعدنى كوسيلة للحصول على الطاقة اللازمة لها . محولة إياه إلى كبريتات كما تستعمل غساز ثانى أكسيد الكربون كمصدر للكربون ويمكنها أن تنمو فى بيئة على درجة عالية من الحموضة حيث أنها تتحمل درجة من الـ pH تصل إلى (صفر) وهذه الصفات الفريدة كانت قد أوحت إلى بعض العلماء بأن التفاعلات الايضية لمثل هذه البكتيريا لابد وأن تكون مختلفة كلية عن البكتيريات غير ذاتية التغذية إلا أن الدراسات الدقيقة قد بينت أنه ليس هناك فرق فى التفاعلات الايضية بين هذه البكتيريا الذاتية وبين الأخرى غير ذاتية التغذية .

عائلة ٦ — Family *Siderocapsaceae*

أفراد هذه العائلة تنتظم خلاياها بشكل خيوط غير متفرعة تتصل بالبيئات الصلبة النامية عليها . ويلاحظ لكل خيط قاعدة وقمة بمعنى أن الخيط يكون



شكل ١٦٤ : بعض أنواع جنس *Thiobacillus* (أ ، ب) خلايا البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* لاحظ أنها تحمل أسواطا طرفية مفردة polar monotrichous (جـ) خلية للبكتيريا *Thiobacillus thioparus* لاحظ الأسواط الطرفية ملتفة (واحدا على كل طرف) .

ذا قطر أكبر عند القاعدة . وعادة تحاط الخيوط بغلاف sheath يكون سمك بسيط عند القمة وعريضا واضحا عند القاعدة . ومادة الغلاف تكون محتوية على ايدروكسيد الحديديك وخاصة عند القاعدة . الخلايا الفردية المكونة للخيوط تكون عصوية واحيانا كروية أو بيضية تنقسم فى ثلاث اتجاهات لتكون كونيديات مستديرة مفردة وغير متحركة وتشمل هذه العائلة الأجناس التالية :

Naumonniella و *Siderocapsa* و *Siderococcus* و *Ochrobium*

الجزء الثالث عشر

البكتيريا التى تنتج الميثان

Methane — Producing Bacteria

العائلة Family :*Methanobacteriaceae*

الخلايا عصوية أو كروية — متحركة أو غير متحركة — سالبة أو موجبة لجرام . لاتكون جراثيم داخلية . غير هوائية إجبارا . وتحصل على الطاقة عن طريق تكوين الميثان عن طريق إختزال ك أ $_2$. وتعتبر هذه العائلة مجموعة فسيولوجية متخصصة جدا ولا تستعمل الكربوهيدرات أو المواد البروتينية أو المواد العضوية إلا الخلات أو الميثانول وفيما يلى مفتاح للتمييز بين الأجناس التى تتبع هذه العائلة

أ — عصويات أو سلاسل من خلايا كروية الجنس

Methanobacterium

ب — كرويات كبيرة فى مكعبات

Methanosarcina

جـ — كرويات مفردة أو فى أزواج أو تجمعات غير منتظمة

الجزء الرابع عشر

الكرويات الموجبة لجرام

Gram — Positive Cocci

العائلة Family *Micrococcaceae*

تشمل البكتيريات الكروية (المستديرة) الشكل . الهوائية أو غير الهوائية . تتميز خلاياها بتكوين تجمعات معينة عقب الانقسام تختلف باختلاف الاجناس . فمنها ما تتجمع خلاياه فى أزواج وتكون الخلايا مفلطحة فى اماكن الالتصاق أو تتجمع فى سلاسل طويلة أو قصيرة (خليتين أو أكثر) أوفى رباعيات أو فى مكعبات منتظمة أو غير منتظمة. احتياجاتها الغذائية معقدة تتطلب لنموها وجود أحماض امينية وفيتامينات معينة بالبيئة . قد تكون اصباغا غير قابلة للذوبان فى الماء ذات لون يختلف بين الأصفر والأحمر والبرتقالى .

جنس — *Micrococcus*

خلايا الأنواع المختلفة من هذا الجنس تتواجد فى مجاميع غير منتظمة ونادرا ماتتجمع فى شكل مكعبات . افراد هذا الجنس تعتبر موجبة لصبغة جرام . بالرغم من أن خلايا بعض الأنواع تفقد قدرتها على الاحتفاظ بصبغة الكريستال البنفسجى بحيث يمكن أن توصف بأنها سالبة لصبغة جرام. بعض أنواع هذا الجنس قد تحتوى على سلالات قادرة على الحركة motile . تنمو بدرجة كبيرة على بيئات الآجار المغذى . وبعض الأنواع تفرز صبغات صفراء أو برتقالية أو حمراء غير قابلة للذوبان فى الماء . موجبة لاختبار الكاتاليز (هوائية) ، تخمر الجلوكوز وتنتج كمية قليلة من الأحماض . لاتخمر اللاكتوز . تسيل الجيلاتين ببطء ملحوظ . أنواع هذا الجنس رميات أو طفيليات اختيارية أو اجبارية ولكنها ليست ممرضة تماما . النوع المثالى *Micrococcus luteus*.

جنس — *Staphylococcus*

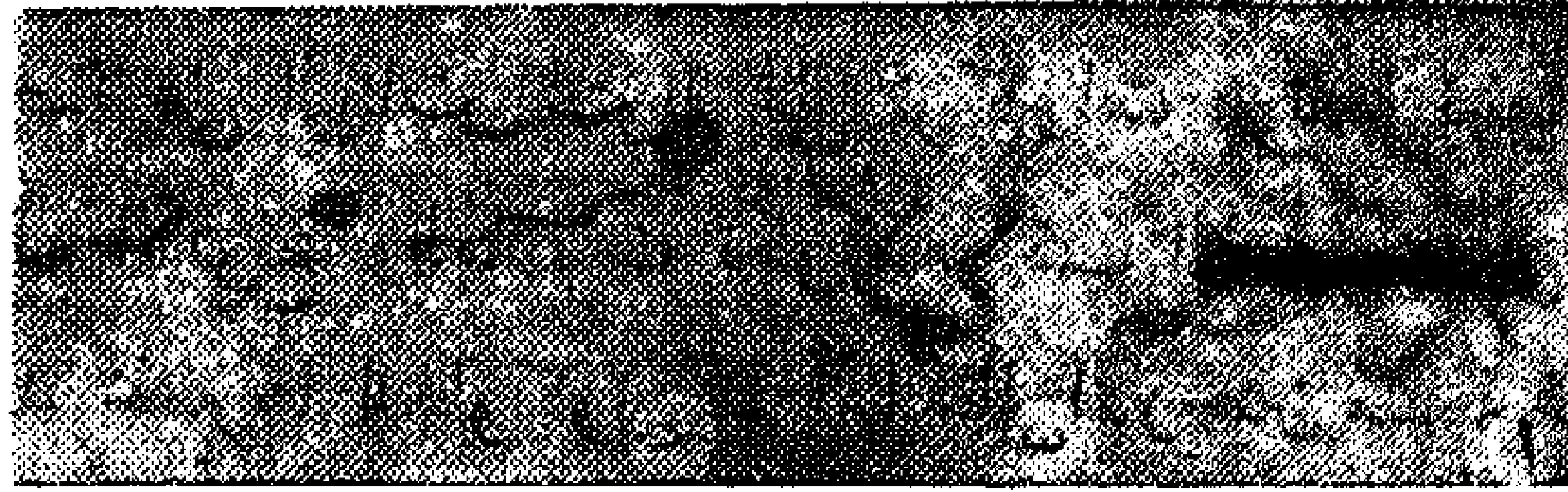
خلايا كروية تتواجد مفردة أو فى أزواج أو فى مجاميع غير منتظمة وبالأخص عندما تنمى فى البيئات السائلة . غير متحركة . موجبة لصبغة جرام . بعض الأنواع تكون صبغات صفراء أو برتقالية غير قابلة للذوبان فى الماء وبخاصة على البيئات المحتوية على تركيزات مرتفعة نسبيا من ملح الطعام . معظم الأنواع والسلالات تكون مركب الاستيل ميثيل كاربيول (Acetoin) عند تخمرها للجلوكوز كما أنها تحلل الأرجنين منتجة غاز الأمونيا (نيد٣) كما أنها تختزل النترات . وذات قدرة على تخمير عديد من المواد الكربوايدارتية .

تتطلب لنموها مصدرا عضويا من النيتروجين (أحماض امينية) علاوة على بعض الفيتامينات عند محاولة تنميتها فى البيئات التركيبية . تنمو بغزارة على البيئات السائلة الغنية بالمحتويات الغذائية مكونة تعكرا واضحا مع تكوين غشاء حلقى على سطحها . موجبة لاختبار الكاتاليز هوائية أو غير هوائية اجبارا تنمو تحت الظروف غير الهوائية اذا توفرت لها مادة كربوايدراتية سهلة التخمر ، ولكن تنمو بدرجة أحسن فى الظروف الهوائية. السلالات ذات قدرة على تحليل كرات الدم الحمراء . يمكنها افراز سموم toxins بجسم العائل أو فى بيئة النمو فهى سلالات ممرضة أو قد تحدث تسمماغذائيا تتواجد غالبا على الجلد والغدد الجلدية وفى الأغشية المخاطية للحيوانات ذات الدم الحار وعلى كثير من المواد الغذائية . النوع المثالى *Staphylococcus aureus*.

العائلة *Streptococcaceae* Family

الخلايا كروية أو بيضية فى أزواج أو فى سلاسل مختلفة الطول أو فى رباعيات . غير متحركة ، أو نادرة الحركة لاتكون جراثيم داخلية . موجبة لجرام . التغذية Chemoorganotrophic الميتابولزم تخمرى (تكون حمض

لاكتيك وخليك وفورميك وكحول إيثايل) . تكون ك ا$_{٢}$ من الكربوهيدرات الإحتياجات الغذائية معقدة ومختلفة . إختبار الكاتاليز مختلف . غير هوائية اختيارا .



شكل ١٦٥ خلاياتابعة لجنس *Streptococcus* (١) سلسلة من *Strept*.sp.typeD في أطوار مختلفة من الانقسام غير واضح بالصورة سكان خروج الأسواط الا أن الأسواط عادية التموج (ب) *Streptococcus* sp. typeD تبين خليتين كرويتين تحمل أسواطا طرفية عديدة polar multitrichous ذات تموجات عادية (د) زوجين من الخلايا من طرز D بعضها يحمل أسواطا مختلفة التموج .

جنس — *Streptococcus*

خلايا كروية أو بيضية (نادرا متطاولة أو عصوية) تتواجد فى أزواج أو فى سلاسل طويلة أو قصيرة . تفرز طبقة غلاف بسيطة جدا إلا أنه يمكن ملاحظة طبقة غلاف واضحة فى بعض الأنواع فى ظروف معينة. خلاياه غير متحركة فيما عدا بعض السلالات التابعة لبعض أنواع الجنس حيث تتحرك الخلايا عن طريق أسواط جسمية (شكل ١٦٥) خلايا موجبة لصبغة جرام . منها أنواع ممرضة ، وأخرى تعيش فى منتجات الألبان والبعض الآخر يعيش معيشة رمية .

جنس — *Leuconostoc*

الخلايا فى حالتها الطبيعية دائرية (كروية) . وفى بعض الحالات الخاصة عندما تتواجد الخلايا بثمار الفاكهة أو الخضر الحمضية التأثير ، فان الخلايا

تصبح ذات طرفين مدببين أو تتحول إلى المظهر العصوى . بعض الأنواع تنمو فى البيئات المحتوية على سكروز مع افراز مواد هلامية لزجة مميزة بالبيئة. تنمو فى البيئات الروتينية الا أن نموها يزداد إذا ما أضيف اليها مستخلص الخميرة أو المستخلصات النباتية كعصارة الطماطم أو غيرها من الخضروات وعموما يمكن لأنواع هذا الجنس أن تخمر الجلوكوز مع تكوين كمية محدودة من الأحماض (خليك ، لاكتيك) ، وكحول الايثال كما أن ٢٥ ٪ من السكر المتخمر يتحول إلى ك ا٢ . نادرا ما تجبن اللبن . تختزل سكر الفركتوز إلى مانيتول mannitol . تتواجد طبيعيا فى اللبن وفى العصارات النباتية . النوع المثالى *Leuconostoc mesenteroides*

الجزء الخامس عشر

العصويات والكرويات التى تكون جراثيم داخلية

Endospore Forming Rods and Cocci

العائلة Family *Bacillaceae*

الخلايا عصوية — جنس واحد كروى — لاتكون ميسيليوم تكون جراثيم داخلية . معظم الأنواع موجبة لجرام . متحركة بأسواط جانبية أو محيطية أو غير متحركة ، هوائية — غير هوائية إختيارا — غير هوائية.

وفيما يلى مفتاح لتقسيم العائلة إلى الأجناس المختلفة

١ — الخلايا عصوية

ا — هوائية أو غير هوائية إختيارا . غالبا تنتج الكاتاليز الجنس *Bacillus*

ب — تتطلب ضغط منخفض من الأوكسوجين ، لاتنتج الكاتاليز الجنس *Sporolactobacillus*

ج — غير هوائية

ج ١ — لاتختزل الكبريتات إلى كبريتيد الجنس *Closrridium*

ج ٢ ــ الكبريتات تختزل إلى كبريتيد الجنس *Desulfotomaculum*

٢ ــ الخلايا كروية فى مكعبات الجنس *Spolorarcina*

جنس — *Bacillus*

بكتيريات عصوية هوائية أو غير هوائية اختيارا . تكون جراثيم داخلية تتحرك عن طريق أسواط جسمية بعض الأنواع غير متحرك الجراثيم الداخلية بيضية أو كروية . موجبة لصبغة جرام . بعض الأنواع تختلف تفاعلها مع هذه الصبغة Gram variable أو سالبة لها . موجبة لاختبار الكاتاليز أنواع هذا الجنس غالبيتها رمية . والبعض منها يصيب الحيوانات والحشرات مسببا لها أمراضا . النوع المثالى *Bacillus subtilis* .

جنس — *Clostridium*

عصويات غير هوائية اجبارا بعضها يتحمل الظروف الهوائية acrotolerent. متجرثمة تنتفخ عادة عند مكان الجرثومة مكونة اشكالا صولجانية مختلفة (شكل ١٦٦) متحركة عن طريق أسواط جسمية . أحيانا غير متحركة . عادة موجبة لصبغة جرام . عديد من أنواعها تحلل السكروز Saccarolyt c وذات قدرة تخمرية مرتفعة مكونة الأحماض أهمها حمض الخليك والبيوتريك Butyric acid وغازات هى كا$_2$ ، يد$_2$ وأحيانا ميثان (ك يد$_4$) . كما تكون أيضا عديدا من المواد ذات التأثير المتعادل مثل الاسيتون والكحولات . والبعض الآخر من الأنواع ذات قدرة تحليلية مرتفعة للبروتينات proteolytic. بعض الأنواع ذات قدرة على تثبيت الآزوت الجوى . حيث انها غير هوائية اجبارا فهى لا تنتج الكاتاليز الا فى حالة الأنواع المتحملة للظروف الهوائية وهذه تنتجه بقلة . القليل من أنواع هذا الجنس محب للحرارة المرتفعة strict thermophiles. كما أن بعض الأنواع



شكل ١٦٦ : خلايا الجنس *Clostridium* (ا ، ب) بكتيريات من النوع *Cl.tetanomorphum* خلايا من مزارع قديمة لذلك فهي تحمل عادة قليلا من الأسواط (جـ) سلالة من البكتيريا *Cl. tertium* أسواطا جسمية عادية .

يمكنها افراز سموم داخلية فى جسم العائل المصاب بها . أنواع هذا الجنس تتواجد باستمرار فى التربة وفى القنوات الهضمية للانسان والحيوان . النوع المثالى *Clostridium butyricam*

ويضم الجنس *Oscillospira* إلى الجزء الخامس عشر ولكنه لاينتمى حتى الآن إلى العائلة *Bacillaceae*

جنس — *Oscillospira*

يشتمل على نوع واحد هو : *O.guilliermondii* والذى أمكن عزله من القنوات الهضمية لحيوانات التجارب (guinca pigs) والذى يكون جراثيم كبيرة (٤ — ٥×٢ ميكرون) وقد تتكون أكثر من جرثومة واحدة فى كل خلية من خلايا الخيط .

الجزء السادس عشر

البكتيريات العصوية غير المتجرثمة والموجبة لجرام

Gram — Positive , Asporogenous Rod Shaped Bacteria

العائلة Family *Lactobacillaceae*

عصويات مستقيمة أو منحنية — توجد عادة مفردة أو فى سلاسل .

غير متحركة — سلالات نادرة متحركة . موجبة لجرام . غير هوائية أو غير هوائية إختياراً . الإحتياجات الغذائية معقدة . على الأقل نصف كربون النواتج النهائية لميتابوليزم الكربوهيدرات يكون حمض لاكتيك . لاتهاجم اللاكتات بطريقة غير هوائية — سالبة للكاتاليز .

جنس — *Lactobacillus*

أنواع هذا الجنس عصويات طويلة غالبا مستقيمة . غير متحركة موجبة لصبغة جرام . نادر ا ماتكون صبغات . الا أن بعض الأنواع يمكنها أن تنتج صبغات غير قابلة للذوبان فى الماء . ذات لون أصفر أو برتقالى أو تظهر مستعمرات بلون طوبى أحمر . لاتسيل الجيلاتين . تنمو بقلة على بيئة البطاطس تهاجم كل السكريات الأحادية أو الثنائية أو عديدات التسكر منتجة نوعين من التخمر : تخمر لاكتيكى (حمض لاكتيك فقط) وتعرف الأنواع التى تقوم بهذا النوع من التخمر باسم وحيدةالتخمر homofermenters أو تخمر لاكتيكى مختلط (حمض لاكتيك+ خليك + كحول — ك ا$_{٢}$) وتعرف الأنواع التى تقوم بهذا النوع من التخمر مختلطة التخمر hetcrofermenters يمكنها ايضا أن تختزل النترات . بعض الأنواع تنمو جيدا على درجات الحرارة المرتفعة . تنمو بقلة على سطوح البيئات حيث أنها ميكروايرفيلية وأحيانا لاتنمو اطلاقا فى الأنواع غير الهوائية منها . لاتكون انزيم الكاتاليز . تتواجد بكثرة فى المنتجات النباتية والحيوانية المتخمرة وخاصة فى منتجات الالبان . والجدول التالى يبين بعض الأنواع .

مختلطة التخمر Heterofermenters	احادية التخمر Homofermenters
Lactobacillus breuis	*Lactobacillus casei*
Lactobacillus buchneri	*Lactobacillus acedophilus*
Lactobacillus fermenti	*Lactobacillus plantarum*
Lactobacillus thermophilus	*Lactobacillus helueticus*
	Lactobacillus bulgaricus

ويوجد عدد من الأجناس لم تحدد درجة قرابتها بعد لأحد العائلات ولكنها تنتمى إلى الجزء السادس عشر.

جنس — *Listeria*

عصويات صغيرة . متحركة عن طريق اسواط جسمية موجبة لصبغة جرام . تنمو بسهولة على البيئات الغذائية . تخمر الجلوكوز وبعض السكريات الاحادية الأخرى مكونة أحماضا فقط . تحلل الاسكيولين مائيا . تنتج انزيم الكاتاليز فهى هوائية اجبارا . طفيليات ممرضة للحيوانات ذات الدم الحار .

النوع المثالى *Listeria monocytogenes* والمسبب للمرض المعروف باسم Listerellosis فى الماشية والأغنام والذى يؤثر على الجهاز العصبى .

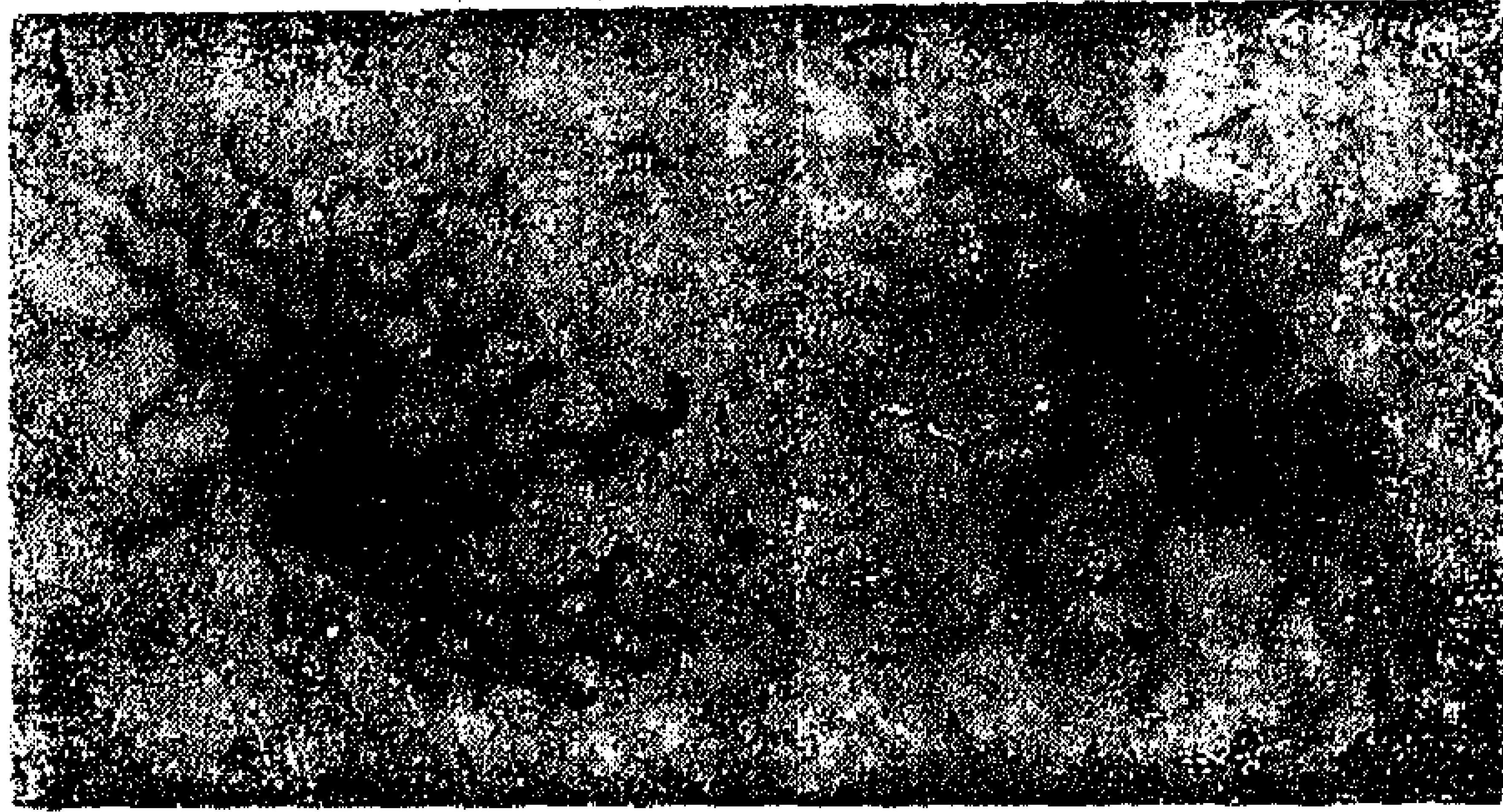
جنس — *Caryophanon*

خيوطه منحنية قليلا قليلا (١٥ — ٢٠×٣ ميكرون) ذات أسواط جسمية (شكل ١٦٧ ، ١٦٨) تنمو على بيئات خاصة قلوية التأثير (ذات درجة pH ٧,٨ — ٨) تحتوى على مستخلص السماد البلدى وكذلك على البيئات المحتوية على مستخلص الخميرة وذات نفس الدرجة من الـ pH . بكتيريات هوائية ، غير ممرضة يمكن عزلها من براز الماشية . تكون مستعمرات مستديرة قطرها ١—٢ ميلليمتر ذات حواف مموجة . النوع المثالى *Caryophanon lactum*.

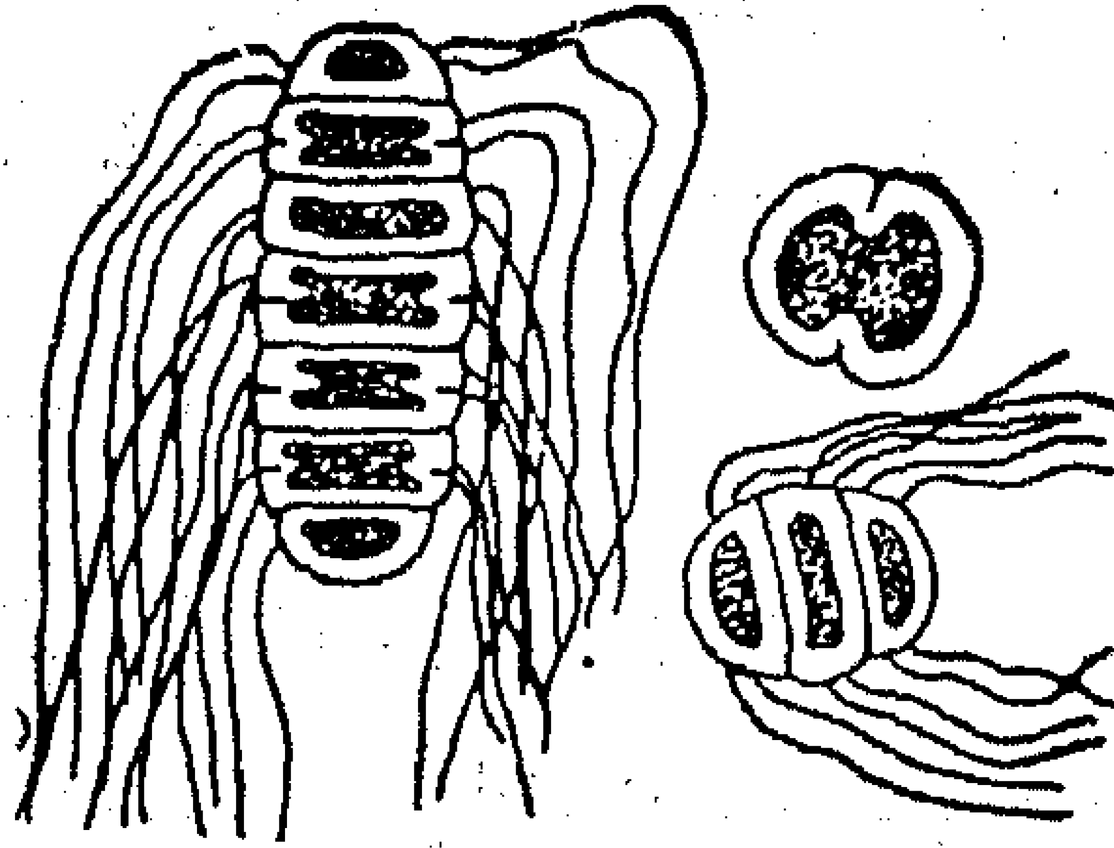
الجزء السابع عشر
الأكتينوميسيتات والكائنات القريبة منها
Actinomycetes and Related Organisms

جنس — *Corynebacterium*

أنواعه ذات خلايا عصوية قصيرة مستقيمة (شكل ١٦٩) أو منحنية قليلا . تحتوى على حبيبات ميتاكروماتينية وهذه تؤدى إلى عدم انتظام صبغ



شكل ١٦٧ : صورة ميكروسكوبية لبعض خلايا *Caryophanon lactum* (ا) أسواطا جسمية ذات تموج عادى . (ب) أسواط كثيرة التموج (تموج غير عادى) .



شكل ١٦٨ : رسم تخطيطى لبعض خلايا من جنس *Caryophanon* يبين الخلايا القرصية الشكل ذات التركيبات النووية القرصية الشكل أيضاً ، الأسواط الجسمية .

الخلايا . وقد تظهر الخلايا فى تجمعات صولجانية منتفخة الشكل يتكون كل منها من ٤ — ٦ خلايا . كمايلاحظ أنه نتيجة للانقسام السريع تتجمع الخلايا متخذة شكلا عماديا palisade arrangment ذات زوايا وتعرف هذه التجمعات المميزة للجنس باسم picket fencc غير متحركة بالرغم من وجود الأسواط الأثرية تحت الطرفية (شكل ١٦٩) وهى فى ذلك تختلف أنواعها الممرضة للنباتات عن باقى البكتيريات الممرضة للنبات . موجبة لصبغة جرام إلا أن الخلايا الحديثة السن أو المتقدمة فى السن تفقد صبغة الكريستال البنفسجى بسرعة بمعنى أنها سالبة لصبغة جرام . الا أن الحبيبات الميتاكروماتية

بالخلية تكون دائما موجبة لصبغة جرام . بكتيريات هوائية عادة موجبة لتفاعل الكاتاليز الأأن بعض الانـواع تحتاج إلى ضغط منخفض من الأكسجين microaerophilic أو غير هوائية إجبارا.

تسيل أو لاتسيل الجيلاتين. تختزل او لاتختزل النـترات إلى نيتريت. قدتخمر أولاتخمر السكريات ونادرا ما تكـون احـماضـا بنسبة كبيرة . بعض الانـواع تؤكسد الجلوكوز كلية إلى ك ا$_2$ ومـاء بدون انتاج غازات مرئية، الأنواع المرضة منها تكون سموما داخليـة endotoxins .



شكل ١٦٩ : خلايا بعض البكتيريات المسببة لأمراض نباتية والتابعة لجنس *Corynebacterium* (ا ، ب ، جـ ، د ، هـ) سلالات مختلفة *Corynebacterimu flocumfaciens* ذات تسوط مثالى للنوع لا حظ أنه نادراً ماتحمل الخلية الواحدة أكثر من سوط واحد تحت طرفى subpolar (و) خلية من ابكتيريا . *Coryne poinsettiae* تحمل سوطين جسميين .

أفراد هذا الجنس منتشرة بكثرة الطبيعة ، والإنواع المعروفة من هذا الجنس طفيلية على الانسان والحيوان والنبات كما وجدت بعض الأنواع الأخرى غير المرضة بأجسام الطيور والحيوانات اللا فقرية .

والنوع المثالى *Corynebacterium diphtheria* وهو المسبب لمرض الدفتيريا فى الانسان . والعديد من أنواعها يصيب النباتات مسببا امراضا مختلفة ومن أمثلتها مايأتى :

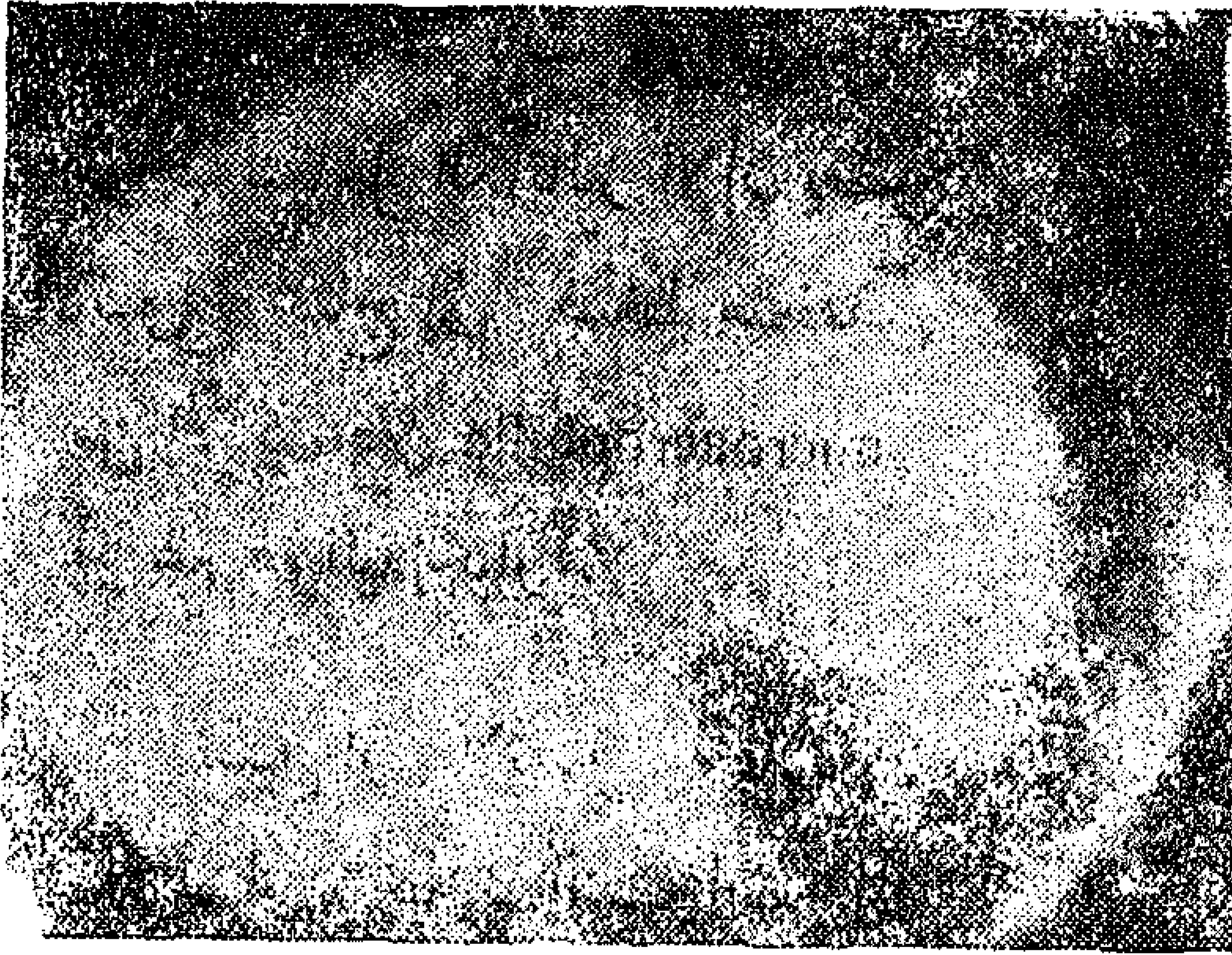
Corynebacterium spedonicum المسبب لمرض التعفن الحلقى بالبطاطس (شكل ١٧٠)

Corynebacterum michiganense المسبب لمرض التقرح فى الطماطم (شكل ١٧١)

Corynebacterium faciens المسبب لمرض التورم الورقى لعديد من النباتات



شكل ١٧١ : قطعة من ساق نبات طماطم مصابة بمرض التقرح البكتيرى المتسبب عن البكتيريا
Corynebacterium michiganense
إلى اليمين مقطع طولى فى الساق المصاب لاحظ تلون الاسطوانة الوعائية .



شكل ١٧٠ : قطاع فى درنة بطاطس مصابة بمرض التعفن الحلقى المتسبب عن البكتيريا
Corynebacterium spedonicum

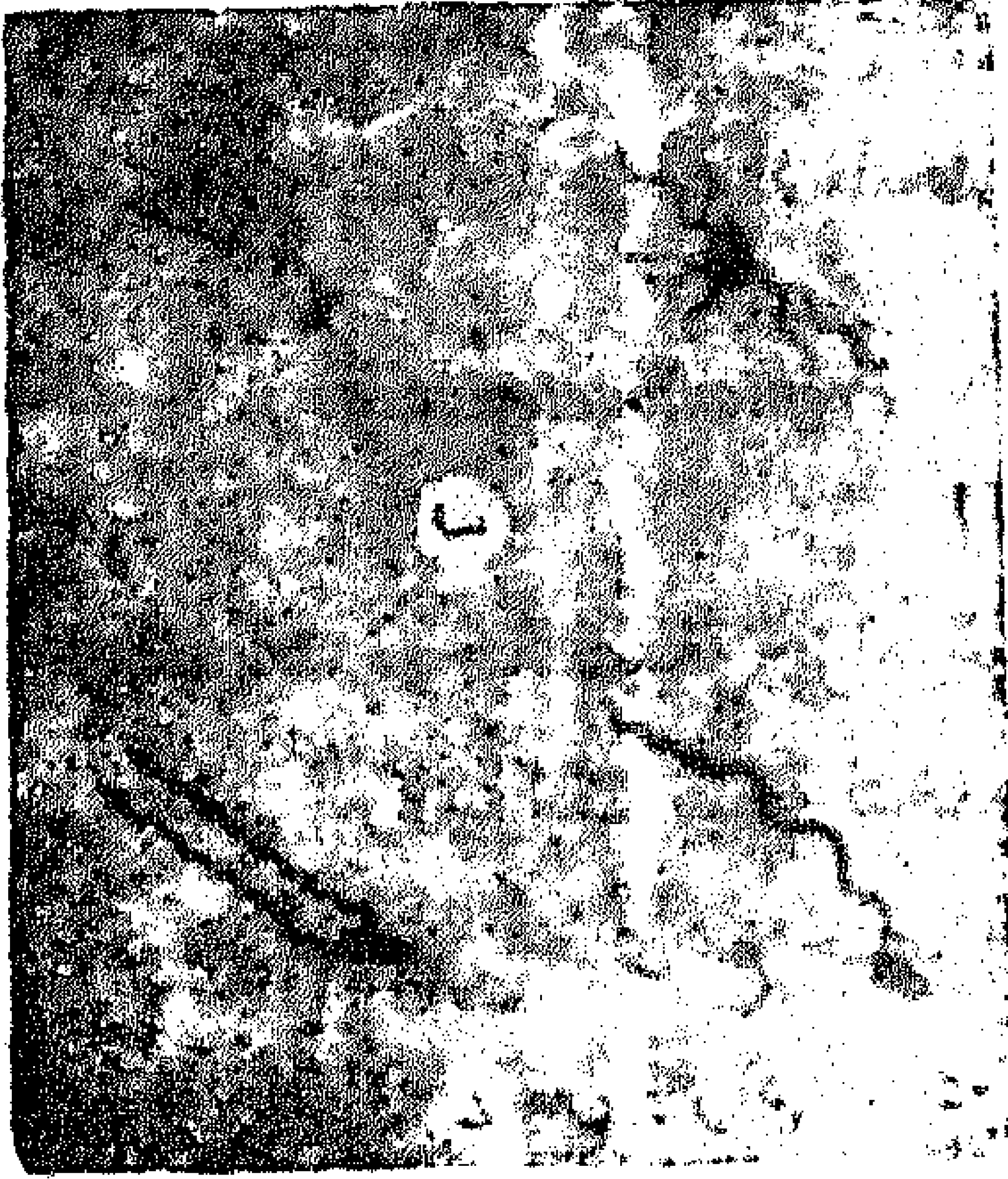
جنس — *Brevibacterium*

بكتيريات عصوية قصيرة . غير متحركة . بعض الأنواع تفرز أصباغا لتظهر المستعمرات باللون الأحمر أو الأحمر البرتقالى أو الأصفر أو البنى وهذه الأصباغ غير قابلة للذوبان فى الماء . وعندما تنمو فى بيئة تحتوى على جلوكوز تخمره مع انتاج أحماض فقط . لاتخمر اللاكتوز وقد تختزل النترات إلا أن بعض الأنواع لاتختزلها . بعض الأنواع لها قدرة على تحليل البروتينات . بكتيريات هوائية أو غير هوائية اختيارا .

تتواجد فى منتجات الالبان وفى التربة وفى المياه العذبة والملحية والنوع المثالى للجنس هو *Brevibacterium linens* .

جنس — *Cellulomonas*

تشمل بكتيريات ذات اشكال مورفولوجية غير ثابتة pleomorphic. قد تظهر عصوية مستقيمة أو منحنية ذات زوايا . خلاياها مستديرة أو



شكل ١٧٢ : لوحة لخلايا من الجنس *Cellulomones rossica*(أ)*Cellulomonas* أسواط عادية جسمية (ب) *C. bibula* أكثر خلاياه تحمل سوطاً واحداً جسمياً شديدالتموج (جـ) *C perlurida* سوط واحد جسمى ذو تموج عادى فى قاعدته وتموج غير عادى قرب قمته (tiplicity) (د) سلالة من البكتيريا *C. perlurida* تحمل أسواط جسمية طويلة شديدة التموج .

صولجانية أو متفرعة أو كروية . ودرجة الأختلاف فى الشكل تعتمد على عمر الخلايا وكذلك على الظروف البيئية النامية عليها . متحركة عن طريق واحد أو أكثر من الأسواط الجسمية (شكل ١٧٢) بعض الأنواع غير متحركة اطلاقا . وعادة عندما يتواجد سوط واحد يكون وضعه طرفيا أو تحت طرفى . ذات تفاعل مختلف (variable) مع صبغة جرام . نموها ضعيف على البيئات الغذائيـة يمكنها افراز صبغة صفراء غير قابلة للذوبان فى المـاء تسيل الجيلاتين ببطء شديد . موجبة لاختبار الكاتالاز . تخمر الكربوايدرات مكونة أحماضاً فقط . يمكن عزلها من التربة أو من النباتات . يهاجم السليلوز بدرجة واضحة النوع المثالى *Cellulomonas biazotea* .

ومن الأجناس الإخرى التى تشملها هذه العائلة :

جنس — *Kurthia*

عصويات طويلة ذات أطراف مستديرة نوعا ما . عندما تنمو فى البيئات الغذائية السائلة تترتب الخلايا فى سلاسل منحنية انحناءات منتظمة . وعندما تنمو فى بيئة الجيلاتين تتكون هذه السلاسل أو الخيوط ثم تنقسم إلى وحدات كروية صغيرة coccoid . خلاياها غير مغلفة . بعضها يتحرك

بأسواط جسمية . لايمكنها تحليل أو مهاجمة المواد الكربوايدراتية . غير هوائية اختيارا. تتواجد فى المواد المتحللة (رميات) . النوع المثالى *Kurthia Zopfi*

العائلة — Family *Propionibacteriaceae*

عصويات موجبة لصبغة جرام غير متحركة . تشمل الأجناس التى تنتج حمض البروبيونيك نتيجة لتخميرها للكربوايدرات كما أن لها القدرة على تكوين أحماض أخرى مع حمض البروبيونيك وغاز ثانى أكسيد الكربون وأفرادها تتراوح بين أفراد تحتاج إلى ضغط منخفض من الأكسجين microaerophillic إلى أفراد غير هوائية اجبارا .

جنس — *Propionibacterium*

أنواعه غير متحركة . غير متجرثمة . موجبة لصبغة جرام . عندما تنمو فى بيئات متعادلة (pH ٧) تحت ظروف غير هوائية تتجمع الخلايا العصوية القصيرة لتعطى مظهرا خيطيا يعرف باسم diptheroids . والذى يشبه إلى حد ما تجمع خلايا البكتيريا Streptococci وتحت الظروف الهوائية وعندما تلقح البيئة بكمية كبيرة من اللقاح فان الخلايا تتكاثر متخذة مظهرا عصويا طويلا غير منتظم أو صولجانى الشكل وأحيانا تميل الخلايا إلى التفرع الكاذب .

عندما تصبغ الخلايا بصبغة البرت Albert فانه يمكن صبغ الحبيبات الميتاكروماتينية بالخلايا الفردية. يمكن لأنواع هذا الجنس أن تخمر الكربوايدرات وتنتج حمض لاكتيك كما أنها لاتخمر الكحولات عديدة المجاميع الهيدروكسيلية polyhydroxy alcohols منتجة لحمض البروبيونيك وحمض الخليك وثانى أكسيد الكربون . وكقاعدة عامة تنتج خلايا جميع الأنواع انزيم الكاتاليز بالرغم من أن بعضها ينتجه بقلة ملحوظة . أنواع هذا الجنس لها ميل شديد للنمو فى غياب الهواء حيث يمكن مشاهدة مستعمراتها الكبيرة نوعا والتى تظهر على البيئات الغذائية فى غياب الهواء خلال ٥ — ٧ أيام . تتميز هذه

الأنواع بتعقد احتياجاتها الغذائية . فهي تنمو جيدا فى البيئات المحتوية على مستخلص الخميرة فى وجود كربوأيدرات أو حمض اللاكتيك أو أملاحه. احتياجاتها من الفيتامينات وخاصة مجموعة « ب » بسيطة نسبيا . فكل الأنواع تتطلب حمض البانتوثينيك Pantolhenic acid وغالبيتها تحتاج إلى البايوتين biotin الا أن بعض الأنواع القليلة منها تحتاج علاوة على الفيتامينين السابقين إلى كل من الثامين thiamin أوحمض البارا — امينوبنزويك . درجة الحرارة المثالية لنمو أنواع هذا الجنس ٣٠°م .تتواجد فى منتجات الألبان وبخاصة الجبن الجاف والنوع المثالى للجنس هو *Proptonibacterium freudenreichii* .

رتبة الاكتينومييسيتات Order *Actinomycetales*

أفراد هذه الرتبة تتميز بتكوين خلايا مستطيلة ذات ميل إلى التفرع الحقيقى والتى تشبه كثيرا هيفات الفطريات الا أنها تتميز عنها بدقة حجمها حيث لايزيد قطرها عن ١,٥ ميكرون وفى المتوسط ١ ميكرون أو أقل وغالبيتها موجبة للصبغ المقاوم للأحماض . أفراد أحد عائلاتها أعنى *Mycob-acternaceae* ذات ميسيليوم أثرى أو غائبا ولاتكون جراثيم من أى نوع .وفى العائلات الأخرى من هذه الرتبة يتكون ميسليوم متفرع ويمكن أن تتكون جراثيم معينة يطلق عليها اسماء عديدة منها oidiospores أو conidia أو sporangiospores . كما أن بعضها يمكنه أن يكون جراثيم بطريقة خاصة نتيجة لتجزؤ الهيفات المستقيمة أو المنحنية والتى تعرف حينئذ بالهيفات الحاملة للجراثيم spore bearing hyphae والجراثيم الكونيدية أو oidospores تتكون عادة عن طريق تكوين جدر عرضية تقسم الهيفاإلى أجزاء متساوية أو بمعنى آخر تتكون بنفس الطريقة التى تتكون بها مثل هذه الجراثيم بالفطريات الحقيقية . وقد تتكون الكونيديات مفردة على نهاية حامل كونيدى بسيط أو متفرع . والجراثيم sporangeospores تكون عادة محمولة بداخل كيس مستدير أو متخذة أشكالا غير محدودة تعرف باسم sporangium . وقد

ذكر أن بعض أنواع الجنس *Nocardia* التابع لأحد عائلات هذه الرتبة يمكنه الحركة عن طريق أسواط جسمية (شكل ١٧٤) كما أن أفراد العائلة *Actinoplanaceae* وجد أنها تكون أيضا جراثيم سوطية Sporangiospores تمتلك سوطا طرفيا واحدا يساعدها على التحرك في البيئة السائلة النامية عليها الا أن الجراثيم التي تكونها أفراد العائلات الأخرى تكون عادة غير متحركة .

والتركيب الخلوى للأكتينوميسيتات عموما يشبه إلى حد كبير تركيب الخلايا البكتيرية الا أن جدرها الخلوية ليست مكونة من السليلوز أو الكايتين فهي بهذا تختلف عن الفطريات الحقيقية . القليل من أفراد الرتبة أفراد ممرضة للانسان والحيوان والنبات ، الا غالبيتها تتواجد طبيعيا بالتربة وبدرجة أقل في المياه العذبة .

والصفة المميزة للكائنات المدرجة برتبة الأكيتينوميسيتات هي قدرتها على التفرع الحقيقي والذي يشاهد بوضوح في كل أنواع الرتبة . كما أنها لاتكون جراثيم داخلية مثل التي تكونها أفراد عائلة *Bacillaceae* التابعة للبكتيريات الحقيقية ، ولكنها تكون جراثيم تشبه تلك التي تكونها الأعفان والفطريات . والنمو الخلوى المتفرع (الميسيليوم) وكذلك طريقة تجرثم هذه الكائنات قد يبين مدى القرابة بينها وبين الفطريات فهي لذلك تعرف بأنها بكتيريات شبيهة بالفطريات . ومن ناحية تشابهها للبكتيريا فهذه الكائنات تعتبر ذات قرابة بالبكتيريات الحقيقية الموجبة لصبغة جرام وغير المتجرثمة وبخاصة العائلة *Corynebacteriaecae* . وتشتمل هذه الرتبة على الأربع عائلات التالية

عائلة — Family *Mycobacteriaceae*

أفراد هذه العائلة تظهر تفرعا أثريا أو تفرعا غير حقيقي وقد يكون التفرع معدوما تشتمل هذه العائلة على الجنسين التاليين .

جنس — *Mycobacterium*

وهو أهم أجناس العائلة . تتميز خلايا أنواعه بأن لها صفات الخلايا

العصوية من البكتيريات الحقيقية حيث تبدو خلاياها عصوية مستقيمة غير متحركة ذات حدود غير منتظمة وذلك فى التحضيرات المثبتة والمصبوغة (وقد يرجع عدم الانتظام إلى عمليات التثبيت الحرارى) . موجبة لصبغة جرام . وموجبة للصبغ المقاوم للأحماض وهو من الصفات المميزة للجنس . وأحيانا تتواجد فى مجاميع بشكل خيوط أو سلاسل . ونادرا مايظهر بها تفرعات . لاتكون أى نوع من الجراثيم . النوع المثالى هو *Mycobacterium tuberculosis* المسبب لمرض السل فى الانسان والحيوان كما يشمل الجنس نوعا ممرضا آخر هو *M. leprae* ، المسبب لمرض الجزام Leprosy فى الانسان . باقى أنواع الجنس رميات بعض منها له القدرة على افراز اصباغ غير قابلة للذوبان فى الماء . ومن الصفات المميزة لأنواع هذا الجنس كثرة احتواء خلاياها على المواد الشمعية أو الدهنية وبخاصة mycollic acid المسئول عن الايجابية فى الصبغ المقاوم للاحماض .

عائلة — Family *Actinomycetaceae*

تتميز أفراد هذه العائلة بتكوين ميسليوم حقيقى والذى يتجزأ فى الأطوار المتأخرة من النمو إلى أجزاء fragments عصوية أو دائرية تعمل على تكاثر الكائن . معظم أفراد هذه العائلة رميات تعيش بالتربة لها قدرة كبيرة على تحليل عديد من المواد . وتتكون العائلة من جنسين هامين هما :

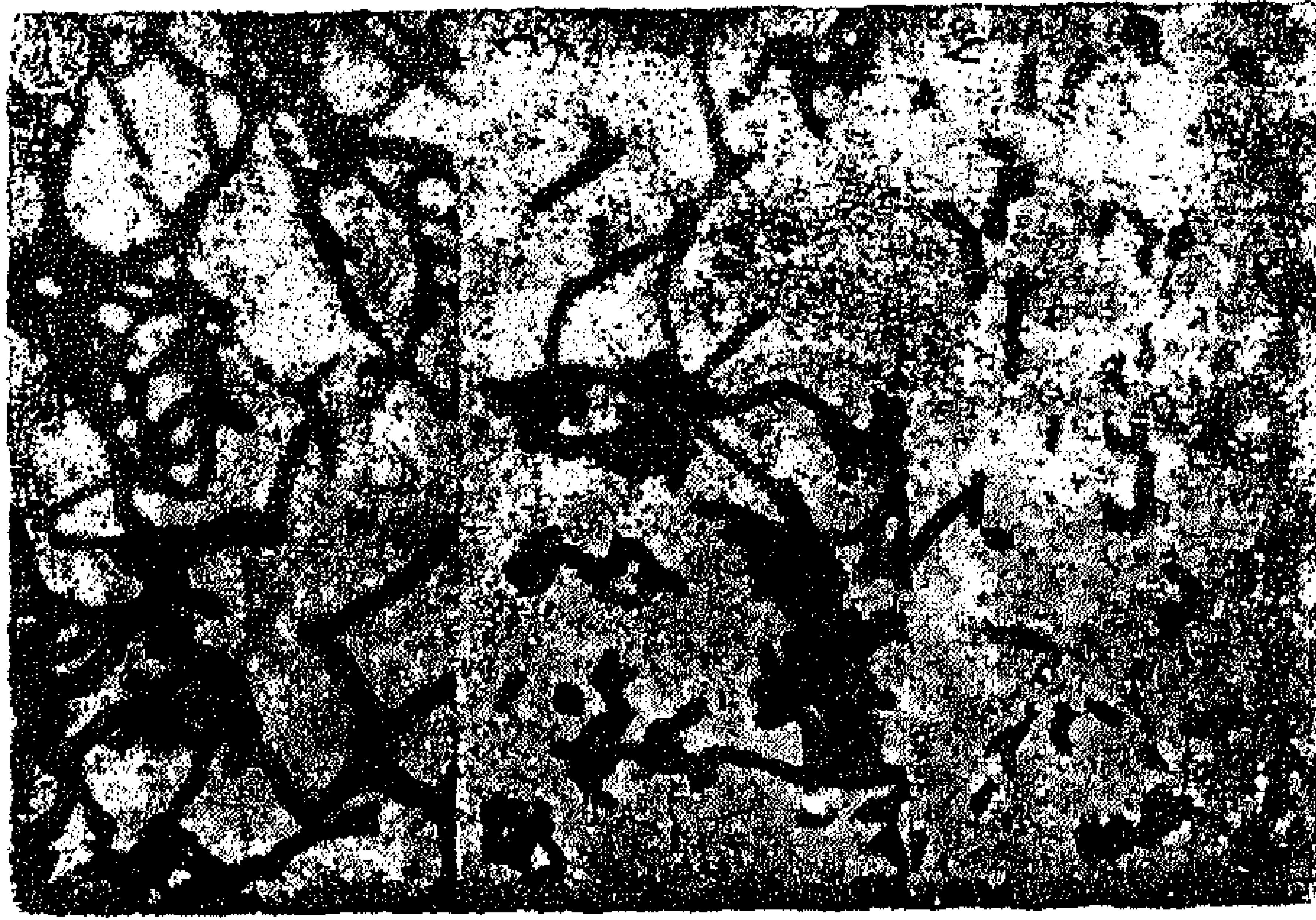
جنس — *Actinomyces*

أنواعه ذات ميسليوم حقيقى متفرع . لايكون كونيديات بل يتكاثر عن طريق التجزؤات الطرفية للهيفات . سالب للصبغ المقاوم للأحماض . غير هوائى ويتطلب ضغطا منخفضا من الأكسجين microaerophilic يصعب تنمية خلاياه على البيئات الصناعية فهى تتطلب احتياجات غذائية معقدة نواعه بعضها ممرضة للانسان والحيوان يسبب اصابات تعرف باسم actinomycoses كمرض الفلك المشوه فى الماشية Lumpy Jaw النوع المثالى *Actinomyces bovis*

العائلة — *Nocardiaceae*

جنس — *Nocardia*

خيوط اسطوانية أو عصويات مستقيمة . عادة منتفخة وأحيانا متفرعة مكونة لميسيليوم . عندما تصل الهيفات إلى حجم معين يبدأ فى التجزؤ لتعطى خلايا صغيرة قريبة الشبه بخلايا البكتيريات الحقيقية (شكل ١٧٣) كما يمكن

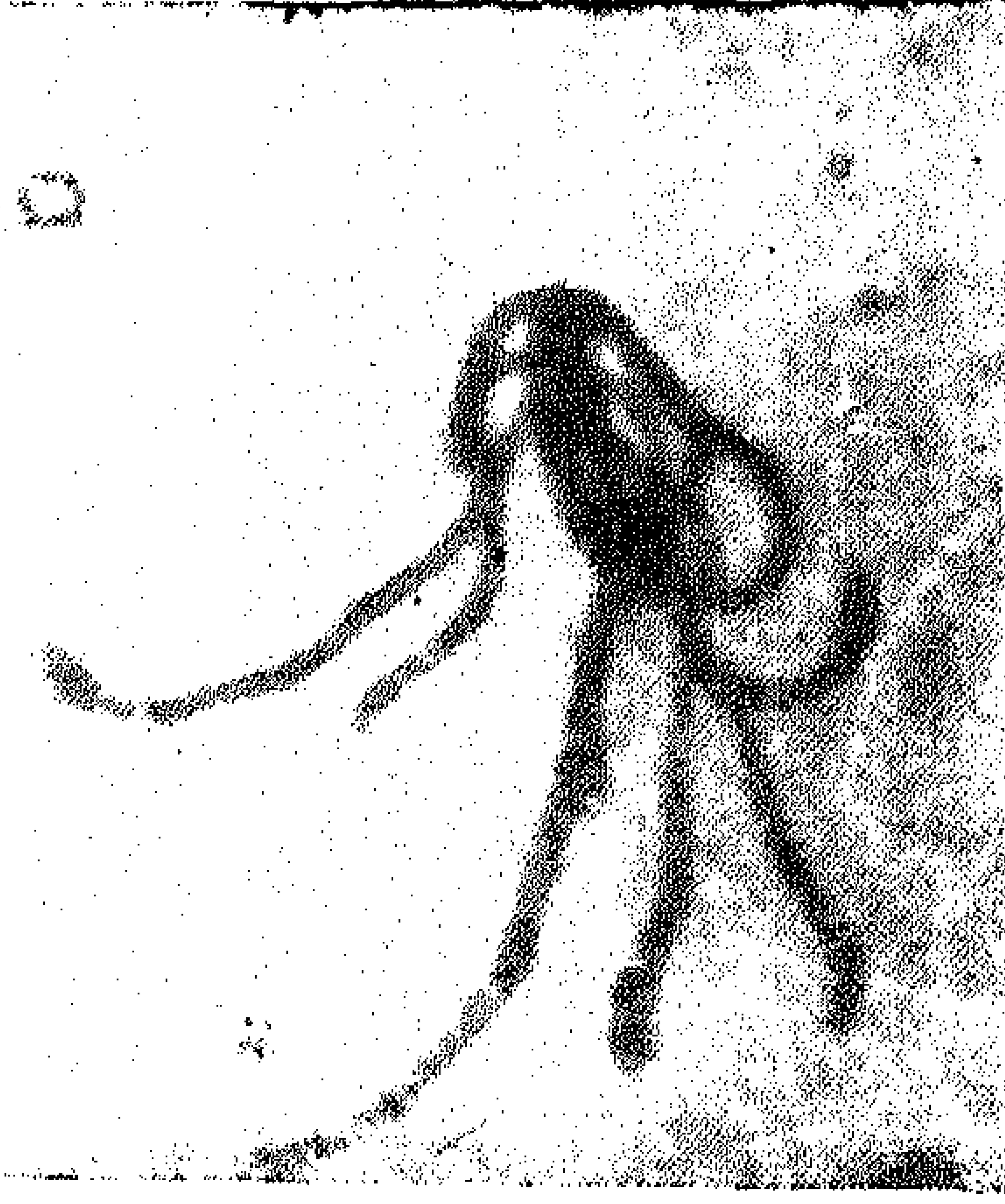


شكل ١٧٣ : لوحة تحتوى ثلاث صور لسلالات من البكتيريا *Nocardia asteroides* تظهر مدى الاختلاف فى الشكل المورفولوجى .

ملاحظة خلايا عصوية قصيرة أو ذات مظهر دائرى فى المزارع القديمة لا تكون جراثيم كونيدية ، أحيانا تظهر درجات متفاوتة من الايجابية للصبغ المقاوم للاحماض . موجبة لصبغة جرام . تعطى مستعمرات على البيئات الصلبة تشبه من الناحية الظاهرية مستعمرات جنس *Mycobacaterium* يمكنها استعمال المواد الهيدروكربونية مثل البارافين والفينول والكريزول ويستغلها كمصدر للطاقة . بكتيريات هوائية. بعض أنواعها متحرك بأسواط جسمية (شكل ١٧٤) بعض الأنـواع ممرضة للانسان والحيوان *N. asteroides* تسبب حالات مرضية تشبه السل تعرف بالـ Nocardosis ولكن غالبيتها رميات تعيش بالتربة . النوع المثالى *Nocardia farcinica*

عائلة —

Family *Streptomycetaceae*



شكل ١٧٤ : خلية من جنس *Nocardia* sp. تحمل أسواطا جسمي ذات تموجات غير منتظمة .

يمكن لأفراد هذه العائلة أن تكون ميسيليومات حقيقية أيضا ولكنها تختلف عن العائلة السابقة فى أن هيفاتها لاتتجزأ ولكن يتكون على نهاياتها جراثيم تعرف بالكونيديات تحمل مفردة أو فى سلاسل مستقيمة أو منحنية أو تحمل على حوامل كونيدية قصيرة (شكل ١٧٥) . وهذه الطريقة من التكاثر (عن طريق الكونيديات) تشبه إلى حد كبير طرق التكاثر التى تتميز بها الأعفان أو الفطريات . بعضها يتحمل الحرارة المرتفعة والبعض الآخر لا يتحملها . أفراد هذه العائلة اكتسبت شهرة حيث أن بعض أفرادها تتميز بافراز المضادات الحيوية .

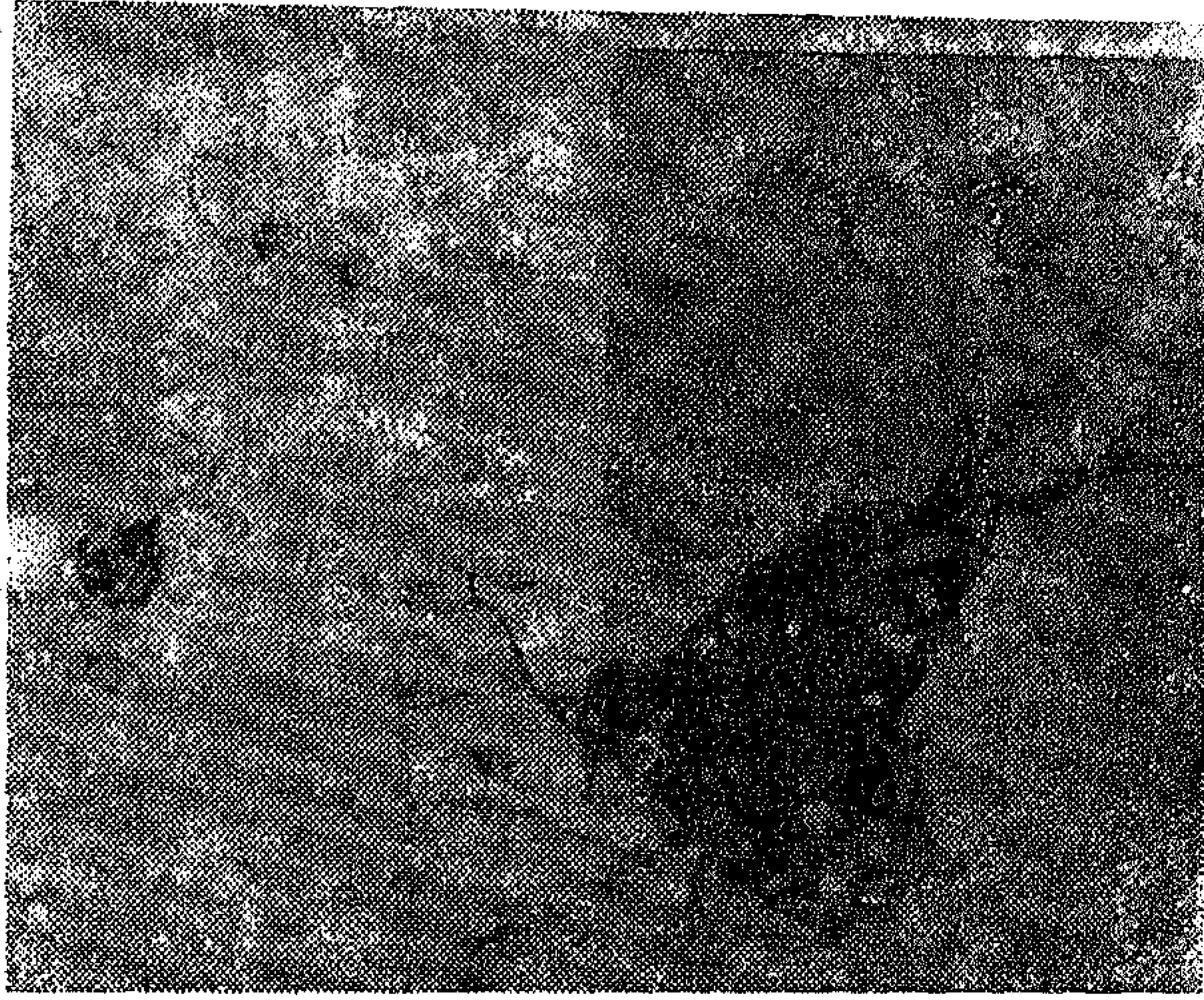
جنس — *Streptomyces*

يكون ميسيليوما متفرع بكثرة يكون هيفات هوائية aerial mycelium تتكون الجراثيم الكونيدية فى سلاسل (شكل ١٧٥) . أفراده هوائية . يعيش معيشة ترممية بالتربة بعض انواعه متطفل على النباتات مثل *Streptomyces scabies* (شكل ١٧٦) المسبب لمرض الجرب فى البطاطس و *Streptomyces ipomoue* المسبب لجرب البطاطا . يشتمل هذا الجنس على عديد من الأنواع التى تستغل فى انتاج المضادات الحيوية النوع المثالى *Streptomycse albus* .

العائلة *Micromonosporaceae*

جنس — *Micromonospora*

أفراد هذا الجنس تكون ميسيليوما متفرعا إلا أنها تحمل كونيديات



شكل ١٧٥ : صورة تبين التفرعات وطريقة تجرثم أحد أنواع الجنس *Streptomyces*.



شكل ١٧٦ : درنات بطاطس مصابة بالجرب العادى المتسبب عن *Streptomyces scabies*

مفردة على نهاية حامل كونيدى قصير (شكل ١٧٧) أفراده لا يمكنها النمو على درجات الحرارة المرتفعة التى تتراوح بين ٥٥°–٦٥°م .

جنس – *Thermoactinomyces*

تشبه أنواعه تلك التابعة للجنس السابق الا أنها تتمكن من النمو على درجات

الحرارة المرتفعة (بين ٥٥° — ٦٥° م)



شكل ١٧٧ : جنس *Micromonospora* لاحظ التفرع الاحادى للهيفات الحاملة للكونيديات الفردية .

عائلة — Family *Actinoplanaceae*

تشمل هذه العائلة أفرادا مائية من الاكتينوميسيتات تم وصفها ودراستها حديثا وتختلف عن أفراد العائلات الأخرى فى هذه الرتبة فى الطريقةالتى تكون بها جراثيمها وكذلك فى طبيعة الجراثيم المتكونة. فأفراد هذه العائلة تكون اكياسا جرثوميةSporangia) وهو تركيب يحتوى الجراثيم السوطية) فى قمة الهيفات . وعندما يصل إلىطور معين من النمو تنطلق من الأكياس الجرثومية جراثيم عصوية الشكل ذات أسواط طرفية بمعنى أنها متحركــة تسبح فى البيئة المائية التى تعيش بها . والجنسين التاليين *Actinoplanes* و *Streptosporangium* يتبعان هذه العائلة .

الجزء الثامن عشر

رتبة الريكيتزيات Order *Rickettsiales*

تعرف الكائنات التابعةلهذه الرتبة باسمالريكيتزيات Rickettsia تخليدا لذكرى Taylor Rickett والذى قام بوصف هذه الكائنات لأول مرة عام ١٩٠٩ عند فحصه لدم حشرات القمل المتغذى على جسم انسان مصاب بمرض التيفوس . وكان أيضاً أول من وصف الصور العصوية من هــذه الكائنات والتى تتواجد فى دم الانسان المصاب بالحمى المعروفة باسم حمى جبالروكىRocky-Mountain spotted-feverومن الجدير بالذكر أن Taylor

Rickett قدمات نتيجة لإصابته بمرض التيفوس الذى اكتشف مسببه .

والريكيتزيات هي طفيليات اجبارية داخلية (intracellular) تعيش داخل خلايا الحشرات مثل القمل ، والبراغيث ، والقراد ، والعناكب والكثير منها يسبب أمراضا للانسان والحيوانات الأخرى تنقل عن طريق الحشرات ، الثاقبة الماصة السابقة الذكر . ولما كانت الريكيتزيات تتميز ببعض صفات البكتيريات وكذلك ببعض صفات الفيروسات لذلك فهى تشغل مركزا وسطياً بينها . فهى تشبه البكتيريات فى بعض صفاتها المورفولوجية وفى كونها لاتمر خلال المرشحات البكتيرية التى تحجز الخلايا البكتيرية ، وهى سالبة لصبغة جرام كما أنها تصطبغ بقلة بالصبغات الانيلينية . وتظهر خلايا الريكيتزيا بأشكال مختلفة مورفولوجيا pleomorphic عندما تتواجد فى خلايا العائل (سواء فى النواه أو السيتوبلازم) .

وتشبه الفيروسات فى كونها طفيليات اجبارية داخل الخلايا الحية وفى عدم القدرة على تنميتها فى البيئات الغذائية بعيدا عن خلايا العائل الحية .

وتتكون خلايا الريكيتزيات غير القادرة على الحركة من مادة متجانسة حبيبية المظهر تشبه كثيرا سيتوبلازم الخلايا البكتيرية . كما لايمكنها انتاج ، جراثيم من أى نوع كما أنها تهلك سريعا من تأثير الحرارة ، والجفاف والمطهرات الكيماوية العادية .

ويمكن الاستدلال على الأهمية الاقتصادية للريكيتزيا مما هو معروف عن تأثير وباء الحمى التيفوسية على البشرية فى العصور المختلفة . ويتسبب هذا المرض عن نوع من الريكيتزيا يعرف باسم *Rickettsi prowozakii* والذى ينتقل من جسم الانسان المصاب إلى الآخر السليم عن طريق حشرات القمل . وعادة يلازم هذا الوباء الكوارث الأخرى التى تلم بالبشرية مثل الحرائق ، والمجاعات ، والحروب ، وليست كل الريكيتزيات ممرضة pathogenic ، فقد أمكن مشاهدة مجموعة كبيرة منها فى أجسام الحشرات وليس لها دور فى

إحداث الأمراض للانسان أو الحيوانات الثديية الأخرى . كما أنها لا تسبب أى ضرر للحشرات العائلة لها . أفراد هذه المجموعة غير ممرضة nonpathogenic وتقسم هذه الكائنات تحت الريكيتزيات فقط لتركيبها المورفولوجى المميز .

بعض الصفات المورفولوجية للريكيتزيات

خلايا الريكيتزيات يتراوح طولها بين ٠٫٣ — ٢ ميكرون وعرضها بين ٠٫٣ — ٠٫٥ ميكرون . ويعتبر النوع *R. prowazakii* أصغرها حجماً . والنوع *R. tsutsugamushi* أكبرها حجماً . ولا يمكن لأيها أن يمر خلال المرشحات البكتيرية والتى تسمح بمرور جزيئات الفيروس مثل مرشح زيتز Seitz filter الذى تستعمل فيه أقراص الاسبستس أو مرشح بيركيفيلد Berkefeld والذى يستعمل فيه شمعة مصنوعة من التربة الدياتومية diatomaceous earth أو مرشح شمبرلاندباستير Chamberlanad-Pasteur الذى تستعمل فيه أقراص مصنوعة من مادة البورسيلين Porcelain

ومتوسط قطر الثقوب الخاصة بهذه المرشحات يتراوح من واحد إلى عدة ميكرونات . ويتوفر بالأسواق حاليا عدد من المرشحات التى تختلف فى أقطار ثقوبها . وجدير بالذكر أن هذه المرشحات لا تعمل فقط فى منع مرور الخلايا البكتيرية أو خلايا الريكيتزيا من الناحية الميكانيكية . بمعنى أن ضيق مسامها ليس الوسيلة الوحيدة فى منع مرور هذه الكائنات ولكن هناك عوامل أخرى تتحكم فى عملية الترشيح مثل الشحنات الكهربائية للمرشح نفسه وكذلك الشحنات الكهربائية المحمولة على وحدات الكائنات المحجوزة كما أن لطبيعة السائل المرشح دور أيضاً فى كفاءة المرشح فى منع مرور البكتيريات والريكيتزيات

هذا والأغشية المعروفة باسم المرشحات الجزيئية molecular filters التى تعرف أيضا باسم Millipores filter membranes تعتبر أيضاً نوعا خاصا من المرشحات البكتيرية التى تحجز خلايا البكتيريا والريكيتزيات بكفاءة فائقة لما لها من ثقوب ضيقة ومنتظمة . ومن المعتاد عند استعمال كل هذه المرشحات

يشترط جذب المحلول المراد ترشيحه خلال المرشح بسحب الهواء أو إجراء درجة من التفريغ فى دورق الترشيح لتسهيل وإسراع مرور الراشح وللحصول على التفريغ اللازم تستعمل مضخات مائية أو ميكانيكية وعموما تعتبر طرق الترشيح هذه من الطرق التعقيمية الممتازة .

والريكيتزيات تتميز بأشكالها الكروية العصوية coccobacillary ولكنها قد تتواجد أيضاً فى أزواج diplobacilli تشبه إلى حد ما البكتريا pneumococci . وأحيانا تظهر الأشكال الكرويةcococid فى سلاسل طويلة. ولما كانت الريكيتزيات مختلفة فى أشكالها المورفولوجية لذلك فان هذه الصفات أعنى شكل وحجم الخلايا ، لايمكن الاعتماد عليها كوسيلة من وسائل التعرف ومما هو جدير بالذكر أن صبغة الجيمسا Geimsa من أفضل الصبغات فى صبغ هذه الكائنات .

والطرق المتبعة فى عزل الريكيتزيات والتعرف عليها تعتمد كثيرا على تنميتها فى أجسام حيوانات التجارب أو فى الأغلفة المحيطة بصفار بيض الدجاج المخصب fertilized egg yold-sacs ، أو فى مزارع الأنسجة tissue culture والكائنات المتحصل عليها بأحد هذه الطرق يمكن التعرف عليها بالطرق السيرولوجية .

وتبعاً للطبعة الجديدة (١٩٥٧) من مرجع بيرجى لتقسيم وتصنيف ، البكتريات . فان رتبة الريكيتزيات Or. *Rickettsiales* تشمل ثلاث ، عائلات : الأولى Fam. I *Rickettsiaceae* تحمل أفرادها بداخل الحشرات والعناكب . الثانية Fam II *Clamydozoaceae* وأفرادها لاتنتقل عن طريق الحشرات وتشبه أفرادها الفيروسات بدرجة قد تؤدى إلى عدم القدرة على تميزها . والثالثة Fam. III *Bartonellaceae* والتى يمكن لبعض أفرادها أن تنتقل عن طريق الحشرات والبعض الآخر لاينتقل عن هذا الطريق . وسوف

نتناول باختصار تقسيم العـائلة الأولى *Rickettsiaceae* لأهميتها . وهـذه تصنف إلى ثلاثة فصائل كما يلى :

١ — فصيلة *Tribe I Rickettsieae* :

والتى تتميز بخلايا مختلفة مورفولوجيا Pleomorphic ، تعيش غالباً داخل خلايا العائل intracellular ، تتواجد فى أجسام الحشرات . بعضها ممرض للحيوانات الفقرية وتشمل الأجناس التالية :

جنس — *Rickettsia* :

خلاياه ينطبق عليها صفات العائلة . تتواجد فى سيتوبلازم خلايا القمل والبراغيث والقراد والعناكب ، وأحيانا تتواجد خارج الخلايا فى تجويف أمعاء الحشرات . لم يمكن تنميتها على البيئات الغذائية بعيدا عن الخلايا الحية . لاتمر من المرشحات البكتيرية . ممرضة للانسان .

جنس — *Coxiella* :

خلاياه تشبه السابقة إلا أن بعضها يمكنه المرور خلال المرشحات .

٢ — فصيلة Tribe 2 *Ehrlichieae* :

خلايا كروية دقيقة جدا أو مختلفة فى الشكل المورفولوجى . ممرضة ، لبعض الحيوانات الثديية وليست ممرضة للانسان . تتواجد فى أجسام الحشرات وبعض الحيوانات اللافقرية . وتشمل ثلاثة أجناس :

جنس — *Ehrlichia* :

خلايا كروية أو مختلفة الشكل المورفولوجى تتواجد فى سيتوبلازم خلايا بعض الحيوانات الثديية . تسبب أمراضا معينة للكلاب والماشية والأغنام ، وتنتقل عن طريق القراد . Cowdria و Neorickettsia .

٣ — فصيلة Tribe 3 - *Wolbachieae*

خلايا كروية أو عصوية الشكل ، وأحيانا خيطية . يمكنها أن تتطبع على النمو فى أجسام الحشرات لتعيش بها معيشة تبادل منفعة .

وتشمل الثلاث أجناس التالية :

جنس — *Wolbachia* :

خلايا مختلفة الشكل المورفولوجى تتراوح بين الكرويات الصغيرة إلى الأشكال الخيطية . تعيش عادة داخل الخلايا إلا أنه يوجد منها أيضا مايمكنه المعيشة خارج الخلايا .

جنس — *Symbiojes* :

خلايا مختلفة الشكل المورفولوجى . تعيش معيشة تبادل منفعة فى أجسام الحشرات العائلة لها . وتحمل هذه الكائنات فى تركيبات خاصة بجسم الحشرات الحاملة لها أو فيما يسمى الـ mycetomes .

جنس — *Rickettsiella* :

يتلازم وجودها داخل خلايا الحشرات مع وجود محتويات بلورية ، معينة . أحيانا تتواجد داخل الأنوية بخلايا العائل . يسبب النوع الوحيد بالجنس *R.popilliae* المرض الأزرق ليرقات الخنافس .

الجزء التاسع عشر

الميكوبلازمات

Mycoplasmas

Class *Mallicutes*

وهى تمثل الصف الثالث من البروكاريوتات غير المكترثة بالضوء وتعرف أيضا بالبكتيريات العارية من الجدار .

أفراد هذه الرتبة ذات أشكال مورفولوجية غير ثابتة highly pleomorphic

تتميز بطرق تكاثر شاذة . حيث تنكسر وحداتها العصوية أو الخيطية (ذات ميل إلى التفرع) إلى وحدات كروية صغيرة ودقيقة جداً يمكنها المرور خلال المرشحات البكتيرية (المرشحات التي تمنع مرور خلايا البكتيريات الحقيقية). وعادة تكون أجسام هذه الخلايا مرنة وسهلة الكسر fragile بدرجة أنها تتأثر كثيرا عند تجهيز تحضيرات منها مثبتة ومصبوغة لأغراض الفحص المجهرى. لاتكون جراثيم داخلية . سالبة لصبغة جرام. تنمو بسهولة على البيئات الروتينية إلا أن بعض الأنواع تكون ذات مطالب غذائية خاصة . بعضها تحدث أمراضا والبعض الآخر يعيش معيشة ترممية. تحاط بغشاء خلوى مكون من ٣ طبقات وتفتقر إلى الجدار الخلوى معظم الأنواع مقاومة للبنسلين.

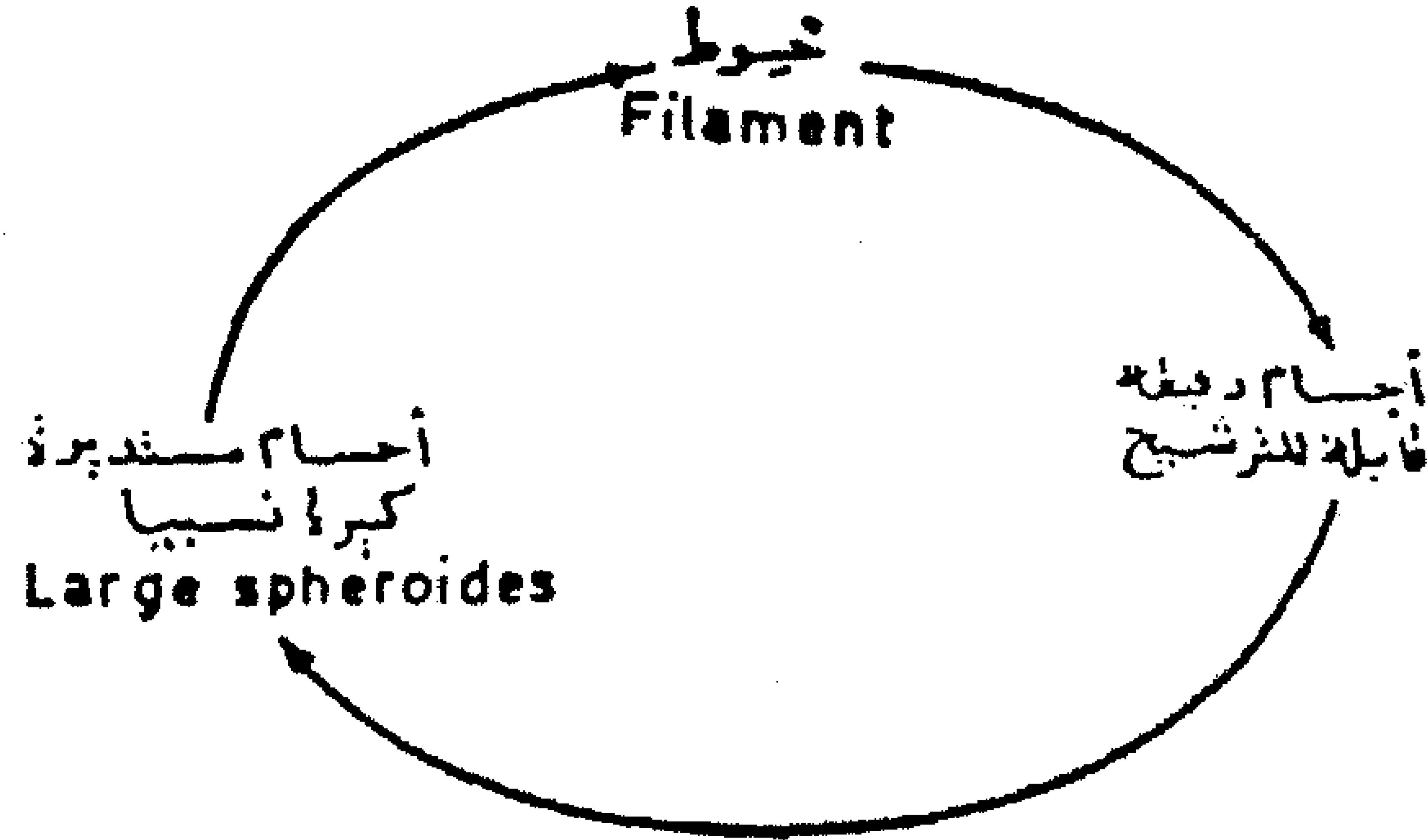
وقد أطلقت أسماء متعددة على أفراد هذه الرتبة وأكثرها شيوعا هو . مجموعة البليرونيمونيات Pleuropneumonia group . وتاريخ اكتشاف هذه المجموعة يرجع إلى وقت التعرف على سبب مرض البليرونيمونيا فى الماشية (١٨٩٨) وكان يظن حينئذ أنه فيرس . ولكن عند محاولة تنمية المسبب على البيئات الغذائية أمكن التأكد من أنه ليس من الفيروسات بل يتبع مجموعة من الكائنات لم يتبين أهميتها إلا منذ عهد قريب .

وفى كثير من الحالات يطلق على الكائنات التابعة لهذه الرتبة والتى تكتشف حديثاً اسم الكائنات الشبيهة بمسبب مرض البليرونيمونيا .

(PPLG) Pleuropneumonia - like - organisms

هذا وبعض صور هذه الكائنات يمكنها أن تمر خلال المرشحات البكتيرية حيث يتراوح قطر أصغرها حجماً بين ١٥٢ — ٢٥٠ ميللى ميكرون ومثل هذه الوحدات الدقيقة القابلة للترشيح يمكنها أن تنمو على البيئات الغذائية أو على الأنسجة الحية مكونة مستعمرات دقيقة الحجم . من ذلك نرى أنه لايلزم استعمال مزارع الأنسجة tissue culture لزرعها كما هو الحال فى الفيروسات القابلة للترشيح . وعندما تصيب هذه الكائنات الخلايا الحية فانها لاتكون بها

أجساما غريبة inclusion bodies كما تحدث فى حالة الاصابات الفيروسية ويعتقد البعض فى أنه قد يكون لميل هذه الكائنات دورة حياة منظمة حيث يمر الكائن خلال عدة أطوار مورفولوجية كما يلى :



وقد اقترح طريقتين لتكاثر هذه البكتيريات :

١ — التجزؤ segmentation ٢ — عن طريق تكوين الوحدات المبدئية elementary units تكون محاطة بغشاء .

هذا ويجب أن نقرر هنا أنه يصعب تفسير الفائدة التى تعود على هذه الكائنات من الدقة الملحوظة فى حجمها . ويبدو أن أفراد هذه الرتبة تمثل مجموعة من الكائنات تقع بين البكتيريات والريكتيزيات من ناحية وبين الفيروسات من الناحية الأخرى .

L - form bacteria

لقد تمكنت Klienberger (١٩٣٥) من أن تعزل أشكال بروتوبلازمية صغيرة رخوة نتجت عن الخلايا العصوية للبكتيريا *Streptobacillus moniliformis* المسببة لحمى عضة الفئران للانسان ، كما تمكنت من الاحتفاظ بهذه الأجسام البروتوبلازمية المرنة وتنميتها فى مزارع نقية ثم أطلقت عليها اسم L - forms تمييزا لها عن الأشكال العصوية المعتادة وحرف (L) المستعمل فى التسمية اشتق من الحرف الأول فى اسم المعهد التى كانت تعمل به العالمة المذكورة وهو

معهد ليستر Lister institute ومنذ ذلك الوقت تمكن آخرون من مشاهدة هذه الظاهرة وأشاروا إليها بنفس الاسم L. - forms او Lister - forms أو L - phases. وهذه التسمية كانت تستعمل لوصف وحدات فردية . وعادة يطلق هذا الاسم على الأجسام المرنة والتى لم تعد تشبه الخلايا البكتيرية الصلبة والتى لايمكنها الرجوع إلى حالتها الطبيعية والتى تعطى عند تنميتها نوعا مميزا من المستعمرات على سطح البيئات الصلبة مستقلة تماماً عن النوع البكتيرى ، الذى نشأت عنه .



شكل ١٧٨ : مستعمراتL - forms البكتيرياStreptobacillus moniliformis نامية فى نقطة معلقة . لاحظ القطرات التى تحتوى على كولسترول .

وعند زراعة L - forms على سطح بيئة صلبة مناسبة فانهاتكون مستعمرات مستديرة تتميز بمركز غامق اللون وحواف تشبه الشريط ذات لون فاتح (شكل١٧٩) وعندما تنموالمستعمرات متكافئةفانهلا يتميز منها إلا مراكزهاأماالحوافىفتلتحم ببعضها ولا يمكن تمييزها. والشكل الشريطى lace like المميز للحواف يرجع إلى إفراز بعض الموادالايضية التى تتركز بالحواف بشكل نقط زيتية. وفى حالة البكتيريا *Streptobcillus moniliformis* وجد أن هذه القطرات تحتوى على مادة الكوليسترول (شكل ١٧٨).

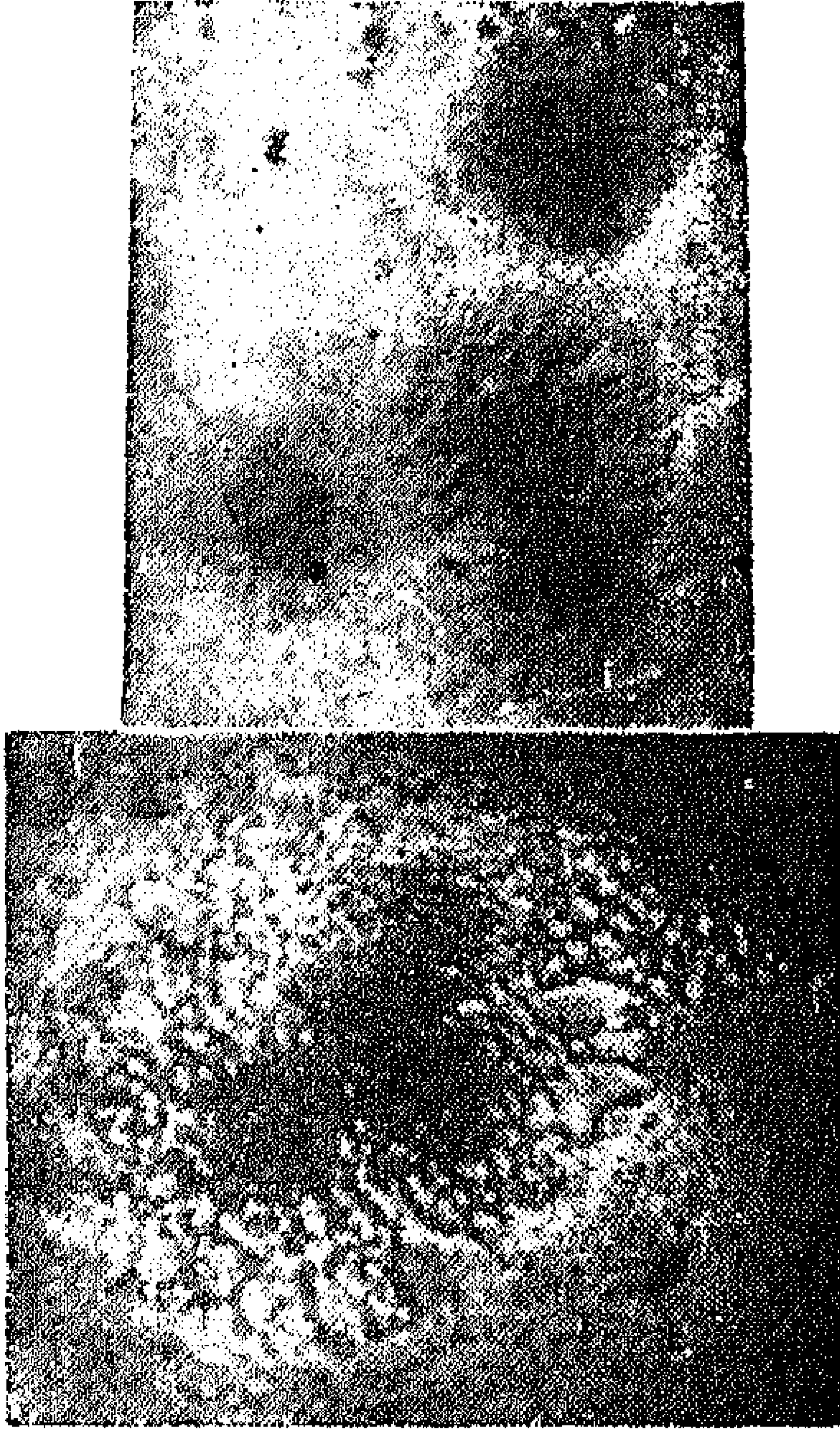
ويرجع كثافة المركز إلى تعمق نمو الخلايا فى بيئة الآجار فى هذه المنطقة . وقد وجد أن مستعمراتL - forms لكل من : *Streptobacillus moniliformis* وBacterium nicrophorus و *Salmonella* sp. و*Proteus vulgaris* و*Streptococcus* لايمكن تمييزهاعن بعضها من الناحية المورفولوجية بمعنى أنها متشابهة تماما.

ولكن يمكن التمييز بينها بالطرق البيوكيمائية أو السرولوجية .

وفى البيئات السائلة تكون نمو L -forms ذو مظهر حبيى granular ويلتصق بجدر الأنابيب أو الدوارق المحتوية عليها أو يترسب فى قاعها ويختلف حجم الحبيبة الواحدة حيث يتراوح بين تجمعات صغيرة إلى أحجام تصل إلى حجم رأس الدبوس . ويشذ عن ذلك L - forms الخاصة بالبكتيريا *Proteus vulgaris* والتى تكون غشاء فوق سطح البيئات السائلة . وجميع L - forms تنمو جيدا على البيئات شبه الصلبـــة . كما يمكن تنمية مزارع L - forms غير الهوائية اجبارا أو اختيارا فى بيئة بريوار Brewer المقواه باضافة سيرم الدم .

التشابه بين L - forms والبكتيريات التابعة لمجموعة البليرونيمونيا

عندما شوهدت مستعمرات L-forms لأول مرة كان يظن أنها بكتيريات تابعة لمجموعة البليرونيمونيا لكثرة التشابه بين مستعمراتها. ففى كل من الحالتين فان مركز المستعمرة يكون مدفونا فى الآجار كما أن مستعمرات كل منهما يتميز بالمظهر الشريطى عند حوافها إلا أن مظهر مستعمرات L - forms يكون ذا مظهر حبيبى بدرجة أكبر (شكل ١٧٩) . وفى كلا المجموعتين فان الخلايا الفردية تظهر اختلافات مورفولوجية واضحة كما أنها تفتقر إلى الجدر الخلوية الصلبـة . . وأفـــراد كـلا المجموعتين من الكائنـــات ذات مطالب غذائية معينة وأن معظمها يحتاج إلى اضافة سيرم الدم إلى البيئة . كما أنها مقاومتان للتركيزات المرتفعة من البنسلين ومركبات السلفوناميد . ونظرا لغياب الجدار الخلوى الصلب فانها تتأثر كثيرا فى المحاليل ذات الضغوط الأسموزية المنخفضة مثل الماء أو محلول الملح الفسيولوجى saline . كل منها يمكنه أن يكون وحدات قابلة للمرور خلال المرشحات التى تحجز خلايا البكتيريا الحقيقية . كل هذا قد جعل الكثيرين يميلون إلى الاعتقاد بـــأن مجموعة البليرونيمونيا ماهى إلا L-forms غير معروفة الأصل .



شكل ١٧٩ : الصورة العليا لمستعمرات L-forms والسفلى لمستعمرات مجموعة البليرونيمونيا .

وبالرغم من هذافانه يوجد بعض الاختلافات بين المجموعتين من الكائنات الأمر الذى يدعو إلى الاعتقادأن L - forms تنتمى إلى مجموعة خاصة بها . ومن هذه الاختلافات ، أن بعض مزارع L - forms يمكنها أن تنمو على بيئات بسيطة فى حين أن الأنواع الممرضة من PPLO لا يمكنها ذلك بل تتطلب إضافة مواد معقدة إلى بيئاتها مثل سيرم الدم والفيتامينات أو مستخلص الخميرة أو مستخلصات المزارع البكتيرية فقد وجد أن PPLO تحتاج أيضاً إلى إضافة كوليسترول فى بيئتها فى حين أن L-forms لا تحتاجها .

نادرا ماتشاهد L - forms فى أجسام المرضى أو فى الطبيعة فى حين أن PPLO منتشرة انتشارا واسعاً فى الطبيعة وأمكن عزلها من التربة ومن مياه المجارى ، ومن أنسجة الحيوانات والانسان .

وقد يتساءل البعض عن الفرق بين L -forms وبين البروتوبلاستات العارية الممكن الحصول عليها بعد معاملة الخلايا بانزيم اللايزوزيم على البكتيريات الموجبة لصبغة جرام كما سبق أن بينا .

والفرق الحقيقى أن البروتوبلاستات العارية التى أمكن تجهيزها باستعمال البنسلين يمكنها أن ترتد إلى الصورة الطبيعية أو الأصلية من الخلايا بينما ال L - forms

تكون أطوارا انتقالية قد تحتوى على كمية معقولة من مادة الجدر الخلوية وهذه يمكنها أن تتكاثر ولكن لايمكنها أن ترتد إلى الشكل العصوى الأصلى .

وفيما يلى بعض المعلومات الإضافية عن L-forms :

١ — الخلايا التى تكون L - forms لاتتطابق سيرولوجيا مع L - forms الناشئة عنها حيث أن الأخيرة لاتحتوى على الانتيجينات السوطية H-antigens المميزة للخلايا الأصلية ولكنها تمتلك فقط الانتيجينات الجسمية O-antigens .

٢ — L - forms الناتجة عن خلايا بكتيرية ممرضة ، لاتسبب أمراضا فمثلا التى تنتج عن *Salmonella typhimurium* او *Streptobacillus moniliformis* تكون غير ممرضة . ولكن فى بعض الحالات وبخاصة L - forms الناتجة عن أنواع *Vibrio* قد يكون لها بعض القدرة الممرضة .

٣ — أن التحولات الايضية لخلايا L - forms تكون متطابقة مع تلك الخاصة بالخلايا الأصلية . ولكنها قد تختلف فى بعض الصفات مثل المقاومة للبنسلين أو مركبات السلفوناميد .

٤ — التركيب الكيماوى لخلايا L-forms لايختلف كثيرا عن التركيب الكيماوى للخلايا الأصلية التى نشأت منها فيما عدا مكونات الجدر الخلوية التى تفتقر إليها خلايا L -forms .

٥ — يمكن إنتاج L-forms نتيجة لتعريض الخلايا الأصلية تدريجيا إلى عوامل منبهة stimulating substances . قبل تكون الأطوار الانتقالية ، وغير الثابتة والتى تتحول إلى L-forms . ومن هذه العوامل المنبهة مادة البنسلين أو بعض الأحماض الأمينية أو السيرم المضاد أو بعض الأملاح . وبمجرد تكون L - forms يمكنها أن تتكاثر ولايمكنها الارتداد إلى أصلها تحت أى ظرف من الظروف .

المراجع

"Bergeys Manual of Determinative Bacteriology". 7th ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore, Md. U.S.A. 1957.

Besset, K.A. 1952. Bacteria, E. and S. Livingstone Ltd. Edinburgh.

Buchanan, R.E., ad N.E. Gibbons. 1974.
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edition. The Williams and Wilkins Company .Baltimore .

Klieneberger—Nobel, 1960. "L-forms of bacteria"in J.C. Gunsalus and R.Y. Stanier (eds.) of "The Bacteria" vol. 1, Academic Press. New York and London.

Leifson, E. 1960 Atlas of bacterial Blagellation. Acadimic Press, New York and London, p. 171 P.

الفصل الثالث

الفــيروســـات

تشمل هذه المجموعة عدد كبير من الكائنات المتباينة الأشكال والمتشابهة في كونها طفيليات اجبارية تعيش داخل خلايا العائل الخاص بها ولازال وضعها التقسيمي غير متفق عليه إلى الآن. وهذه الكائنات دقيقة الحجم جدا بدرجة تسمح بمرورها خلال المرشحات التي تمنع مرور الخلايا البكتيرية والريكتنزيات. ولكي نتصور صغر حجم الجزيئات الفيروسية فان جدار خلية واحـدة من أحد أنواع البكتيريا *Stapiylococcus* تتسع لعدة آلاف من جزيئـات الفيروسات الصغيرة. وأن حجم جزيء الفيروس الكبير لايزيد عن $\frac{1}{4}$ حجم خلية واحدة من هذه البكتيريا. وتنمو الفيروسات في أنسجة النباتات والحيوانات والحشرات وبداخل خلايا البكتيريا، والكثير منها قد لا نضر العائل النامية بخلاياه. وفي بعض الأحيان يمكننا أن نميزه ببعض الأعراض مثل الفيروسات التي تعيش في خلايا أبصال الزينة (tulip) حيث تتسبب في إنتاج أزهار ذات تخطيطات جميلة بدلا من تميزها بلون واحد. وفي هذه الحالة فان إصابة النباتات بالفيرس تزيد من القيمة الاقتصادية لهذه الأزهار. ولذلك يقبل الزراع على عدوى نباتات التيوليب بهذا الفيرس للحصول على أزهار ذات أثمان مرتفعة.

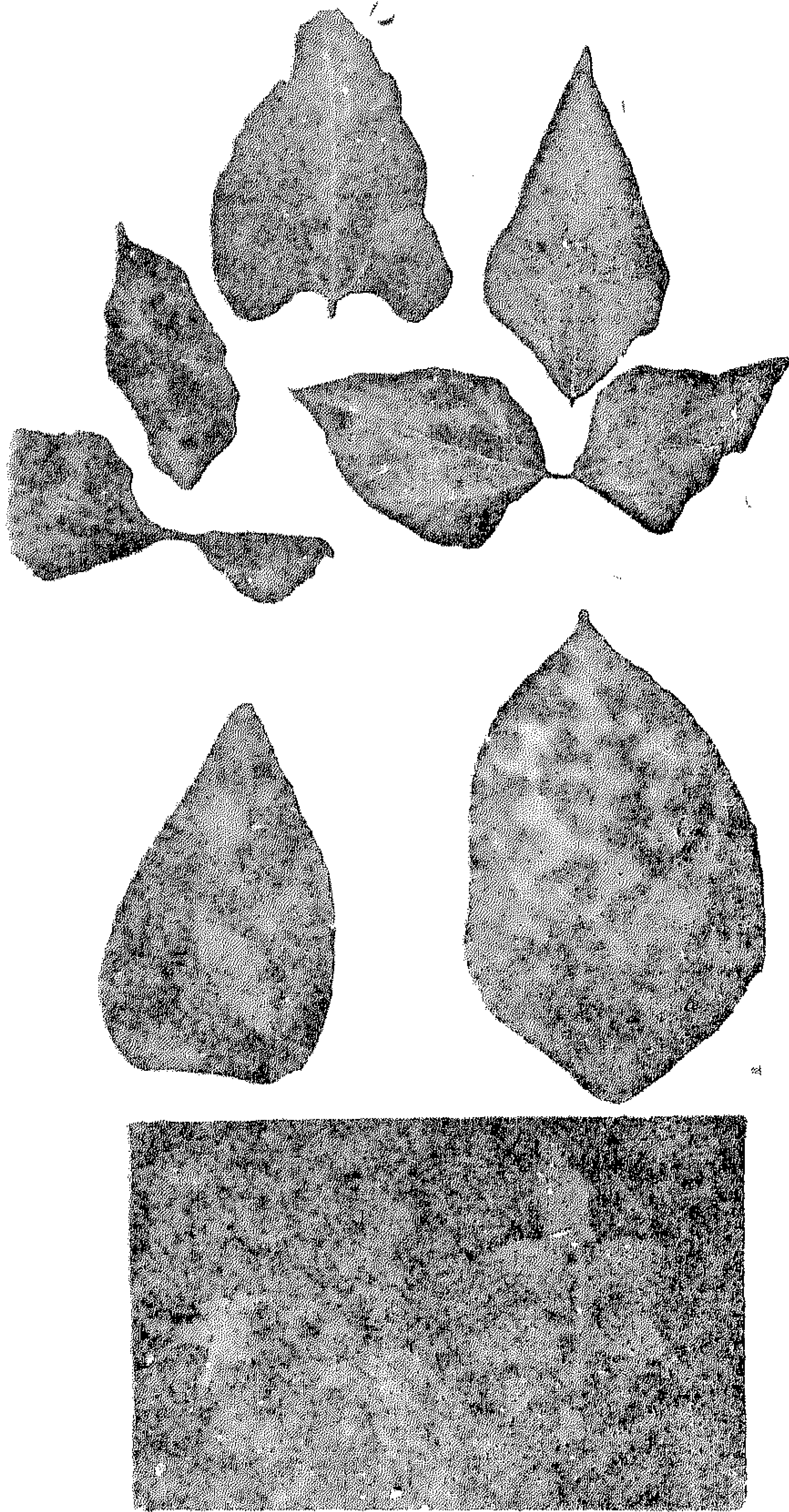
وعند تواجد الفيروسات بجسم العائل تسخر خلايا العائل لصالحها فهى تجبرها على تخليق بروتينات وأحماض نووية فيروسية بدلا من تخليقها للبروتينات والأحماض النووية اللازمة لتكوين خلايا العائل نفسه.

وإذا رجعنا إلى تاريخ الدراسات الفيروسية نجد أن باستير عندما قــام بدراسة مرض الكلب rabies ، بالرغم من عدم قدرته على رؤية المسبب ، وأمكنه تحصين الانسان أو الحيوان من الإصابة به. لم يكن أول من فتح الباب نحو دراسة الأمراض الفيروسية. وفي الحقيقة فان الأمراض المتسببة عـن

الاصابات الفيروسية كان من الممكن التعرف عليها اكلينيكيا منذ عهد طويل قبل باستير . فأول مرض ميكروبى معد أمكن التوصل إلى طرق للوقاية منه كان مرضا فيروسيا ، فقد قام Jenner (١٧٩٦) بدراسة مرض الجدرى small pox ، وأمكنه تحصين طفل عمره ٨ سنوات بلقاح أخذ من بثرة جدرى متكونة على جسم شخص آخر مصاب . وقبل القيام بنشر أبحاثه كان قد تمكن من تحصين ٢٣ شخصا بنفس الطريقة فلم يصب منهم شخص واحد عند التعرض للاصابة . وحاليا يحضر المصل الواقى من مرض الجدرى بتنمية الفيرس فى جنين بيض الدجاج أو على جلد العجول الصغيرة لمنع فرصة انتقال أمراض أخرى إلى الانسان المحصن .

وقد قام Iwanowski (١٨٩٢) باعطاء الدليل الايجابى على وجود الفيروسات القابلة للترشيح عند دراسته لمرض موازييك الدخان (TMV) Tobacco mosaic virus . فقد وجد أن عصارة النباتات المصابة عقب تمريرها فى أحد المرشحات البكتيرية (Berkefeld filter) لازال فى إمكانها عدوى نباتات سليمة . وقد قام Beijernck (١٨٩٨) . بتأييد نتائج Iwanowski والذى اقترح أن العدوى تحدث نتيجة للسائل المعدى contagium vivum fluidum ، وإذا كان ذلك يعنى أن هنالك شيئا معديا فى السائل الناتج عن الترشيح فان Beijernck كان قريبا جدا من الحقيقة .

وبعد عدة أشهر تمكن Frosh and Lôffler (١٨٩٨) من إظهار أن مسبب مرض الفم والقدم فى الماشية foot and mouth disease يمكنه أيضاً أن يمر خلال مرشح بير كفيلد Berkfeld . ومنذ ذلك الوقت أمكن التعرف على عديد من الأمراض تتسبب عن الفيروسات القابلة للترشيح . والتى منها ، الجدرى small pox ، والحصبة measles ، والغدد النكفية mumps ، والانفلونزا ، والالتهاب الرئوى الكاذب atypical pneumonia والحمى الصفراء ، وشلل الأطفال ، ومرض الفم والقدم (الحمى القلاعية) ، وأمراض



شكل ١٨٠ : لوحة تبين بعض أعراض أصابة النباتات بالفيروسات (ا) أوراق نبات فاصوليا مصابة بفيرس موازييك الفاصوليا (BMV)(ب) ووريقات لنبات لوبيا مصاب بفيرس التبرقش الأصفر للوبيا cowpea chlorotic mottle virus (CCMV) (ج) ووريقات من قمة نبات طماطم تبين الدرجات المختلفة من الاصابة بفيرس التقزم القمى لنباتات الطماطم Bushy stunt virus.

لحشرات والطيور . وأمراض النباتات مثل الموازييك ، والاصفـرار ، والذبول ، والتخطيطات ، والتبقعات ، (شكل ١٨٠) . ومن الفيروسات ، مايسبب أمراضا لخلايا البكتيريا ، وتعرف مجموعة الفيروسات التى تصيب البكتيريا باسم بكتيريوفاج bacteriophage .

وعلى هذا الأساس قسم علماء التقسيم الفيروسات إلى الفيروسات التى تصيب البكتيريات وتلك التى تصيب النباتات الراقية وتشملها الفيروسات التى تصيب الحيوانات (الثدييات ، والحشرات ، والطيور والأسماك) .

وعلاوة على ذلك تقسم الفيروسات إلى أجناس وأنواع والأخيرة قـد تقسم إلى طرز سيريولوجية مختلفة . وقد اقترح أخيرا تقسيم الفيروسات تبعاً لنوع الأحماض النووية والدهون التى تحتويها . كما أنه يمكن أيضاً عن هـذا الطريق التعرف على السلالات التى تحتويها كل طراز .

والسلالات هى عبارة عن مزارع يمكن الحصول عليها من عزلات فردية وتسمى عادة تبعاً للشخص الذى قام بعزلها لأول مرة أو تبعاً للمكان أو المنطقة التى عزلت منها لأول مرة . والطراز الواحد يحتوى على عدة سلالات .

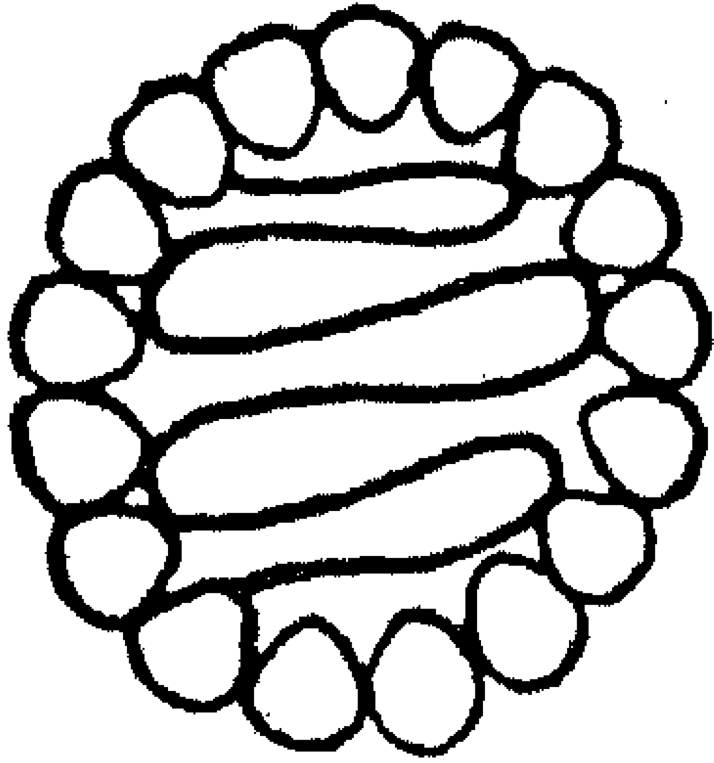
خصائص الفيروسات

قبل التمكن من دراسة الشكل الظاهرى للفيروسات باستعمال المجهر الألكترونى . كانت الاصابات الفيروسية فى خلايا الحيوانات والنباتات تعرف على أساس وجود أجسام غريبة داخل الخلايا السليمة تعرف باسم inclusion bodies والتى تصاحب عادة الاصابات الفيروسية . فقد لاحظ Buist (١٨٨٧) حبيبات دقيقة فى سيتوبلازم الخلايا المحيطة بتقرحات الجدرى كما لاحظ Paschen (١٩٠٦) مثل هذه الحبيبات والتى سميت باسمه Paschen bodies وهى تعتبر تجمعات أو مستعمرات لجزيئات الفيرس داخل خلايا العائل . هذا وتتواجد أجسام غريبة فى سيتوبلازم خلايا الأعصاب وفى خلايا

النخاع الشوكى فى حالات الاصابة بمرض الكلب rabies وتعرف هذه المحتويات باسم Negri bodies تبعاً لمكتشفها وهى تميز الاصابة بهذا المرض. ومثل هذه الأجسام الغريبة فى خلايا العائل قد لوحظت مصاحبة للاصابة بكثير من الأمراض الفيروسية والتى قدتوجد فى السيتوبلازم intracytoplasmic أو فى النواة intranuclear . كما سبق أن بينا فان وجود هذه المحتويات الغريبة تستعمل فى الأغراض التشخيصية للأمراض الفيروسية ولكن لايعرف إلى الآن أهميتها للفيرس أو طبيعة تكونها . هذا وتتكون أيضاً بالخلايا النباتية المصابة بالفيروسات أجسام غريبة تعرف أيضاً باسم inclusion bodies .

تركيب الفيروسات Composition of viruses

تتركب الفيروسات من جزيئات من الأحماض النووية والبروتينات ذات قدرة على التواجد بمفردها أو بشكل بلورات تتركب من عدة ملايين وفى بعض الأحيان عدة بلايين من الجزيئات . وجزىء أو وحدة الفيرس المعدية تعرف باسم « virion » وقبل مناقشة التركيب التفصيلى لكل وحدة يجب أن نذكر هنا أن كل وحدات الفيرس الواحد تكون متطابقة ومتشابهة تماما فى تركيبها وكما هو موضح (بشكل ١٨٠) فان وحدة الفيروس المعدى تتكون من شريط ملتف من الأحماض النووية (التركيب الوراثى) . يوجد بداخل غلاف من البروتين يعرف باسم capsid والذى يتركب من وحدات subunits تعرف باسم capsomeres تترتب بنظام خاص .



شكل ١٨٠ : قطاع فى وحدة فيروسية معدية virion تتركب من شريط ملتف من الأحماض النووية محاط بغلاف بروتينى (capsid) مكون من وحدات يعرف كل منها Capsomeres

وأبسط جزيئات الفيرس تركيبا هى عبارة عن جزيئات من الأحماض النووية محاطة بغلاف بروتينى واقى . والجزيئات الأعقد تركيبا تحتوى على بروتينات نووية

nucleoproteins وبعض المواد الأخرى مثل الدهون ، والكربوايدرات وفى بعض الحالات يوجد بها آثار من المعادن وبعض المواد الشبيهة بالفيتامينات .

والفيروسات البكتيرية تحتوى على نوع معين من البروتينات فى تركيب ليفى خاص يعرف باسم الذيل والذى يمكن عن طريقة الاتصال بخلايا العائل .

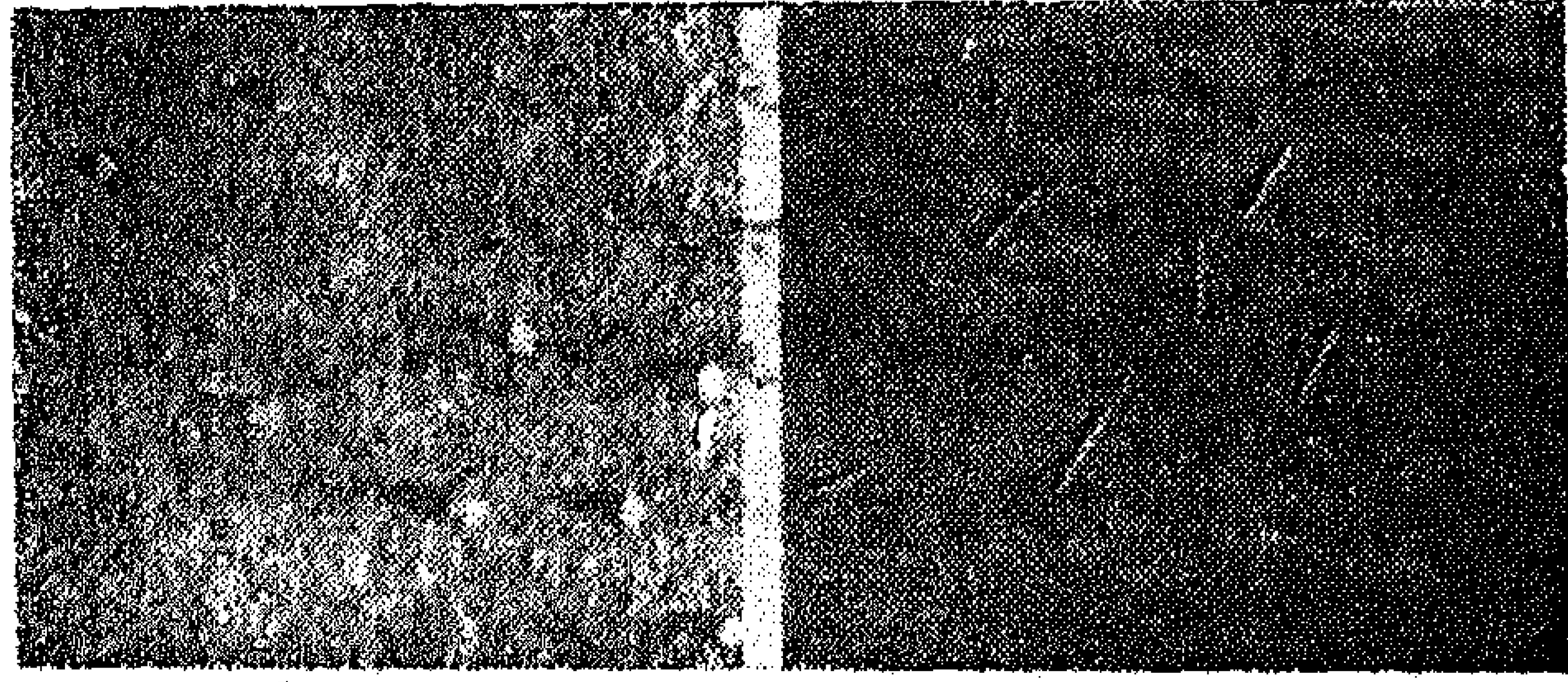
وتحتوى جزيئات الفيرس إما على DNA أو RNA ولكن لايوجد النوعان من الأحماض النووية فى جزىء الفيرس الواحد . وهذا يختلف عما هو معروف عن وجود مثل هذه المكونات فى الخلايا الحية الأخرى والتى تحتوى بدون استثناء على كلا النوعين من الأحماض النووية . ومن المعروف أن DNA هو المادة الحاملة للصفات الوراثية genetic information فى كل الكائنات الحية . إذن فى حالة الفيروسات تحمل الصفات الوراثية على DNA . فى بعض الفيروسات وعلى RNA فى الفيروسات الأخرى الخالية من DNA وتختلف الفيروسات فى محتوياتها من DNA أو من RNA ، وعادة يوجد فى الفيروسات النباتية . فى حين أن الفيروسات الحيوانية قد تحتوى على DNA أو RNA ومن ذلك يمكن تقسيم الفيروسات الحيوانية إلى مجموعتين على حسب محتوياتها من الأحماض النووية وفيما يختص بالفيرس البكتيرى فهو يحتوى باستمرار على DNA .

وقبل اكتشاف المجهر الالكترونى كان من الصعب رؤية الفيروسات ، وباكتشاف هذا النوع من الميكروسكوبات فقد أمكن عمليا رؤية الأشياء ذات القطر الذى يصل من الدقة إلى ١٠ ميللى ميكرون (نظريا ٠٫٥ ميللى ميكرون) وقد أمكن تكبير هذه الأشياء إلى مايقرب من ١٠٠٫٠٠٠ مرة باستعمال المجهر الالكترونى كما يمكن أخذ صور لها وتكبيرها بدرجات أكبر عند الطبع لتصل درجة التكبير إلى مليون مرة .

وعند الفحص بالمجهر الالكترونى فان عينات الفيرس أو المواد الحية الأخرى يجب أن تحضر على غشاء رقيق جدا من مادة الكلوديون collodion

membrane وتترك لتجف ، ثم توضع العينة تحت ناقوس زجاجي مفرغ من الهواء للتأكد من التجفيف التام ، ثم يجرى على العينة عملية يطلق عليها اسم التظليل snadowing بتجزئة بعض المعادن ، كالذهب الغروى أو البلاتين أو بعض المعادن الأخرى كالتنجستين أو الكروميوم والتى تترسب جزيئاتها على العينة لتجعل جزيئات الفيرس (أو خلايا البكتيريا) تبدو ذات ثـلاثة اتجاهات three dimensions

والصور الالكترو ميكرسكوبية التى أخذت لجزيئات الفيروسات تساعد فى معرفة شكلها وحجمها (شكل ١٨٢) كما تساعد أيضاً على معرفة بعض التركيبات الداخلية لهذه الجزيئات .



(ب) (ا)

شكل ١٨٢ : صور الكترو ميكروسكوبية لجزيئات الفيروسات النباتية (ا) جزيئات فيرس موازييك الدخان (ب) جزيئات الفيرس المسبب لمرض التقزم القمى لنباتات الطماطم Tomato bushy stunt.

والفيروسات تظهر اختلافات كثيرة فى أحجامها فأصغر الفيروسات تكون جزيئاتها ذات قطر ١٠ ميللى ميكرون فى حين أن جزيئات أكبرها حجماً تصل إلى ١٠٠ ميللى ميكرون . بعضها يظهر بشكل أبرى أو عصوى أو دائرى أو مكعبة بشكل بلورات عديدة السطوح (rhomboidal) أو تكون ذات ذيل يشبه إلى حد ما أبو ذنيبة tadpoles ، والحالة الأخيرة تميز جزيئات الفيرس البكتيرى (شكل ١٨٤) .

وبتقدم الطرق الالكترو ميكروسكوبية والتحليلية فقد تبين أن جزيئات بعض الفيروسات تتكون من مايقرب من ١٦٢ خيط بروتيني ، تترتب بحيث يظهر الجزيء بشكل عديد الأوجه rhomboiod في حين أن جزء واحدا من الفيروسات الأخرى يتكون من ٢٥٢ جسم كروى صغير تنتظم مع بعضها لتعطى شكلا متعدد الأوجه (ذو ٢٠ سطح) . ويعتبر فيرس موزاييك الدخان أكثر الفيروسات دراسة من ناحية التركيب الجزيئي لوحداته فقد وجد أن جزيء هذا الفيرس عبارة عن خلية حلزونية من البروتين تحيط بشريط حلزونى من RNA . ومحتويات الجزيء من الـRNA تضفى عليه القدرة على إحداث المرض ولكن محتوياته من البروتين يبدو أنها تكون مسئولة عن التخصص العائلى (host specificity) ، فبمجـــرد إزالة الغلاف البروتيني من الجزيء فان RNA العارى يمكنه أن يسبب العدوى فى أى نبات ، كان من المعروف أنـه لايصاب بمرض الموزاييك ، ومن الغريب أن جزيئات الفيرس الحالية من البروتين هذه عندما تتكاثر داخل خلايا عوائل جديدة تكون وحدات كاملة مغلفة بالبروتين .

ويمكن قياس أبعاد الجزيئات الفيروسية عن طريق المجهر الالكترونى ، وكذلك عن طريق التحليلات التى تجرى بالقوة المركزية العالية السرعة analytical ultracentrifuge . وباستعمال الطريقة الأخيرة فان معامل الترسيب sedement rate لأى مادة يكون ثابتاً عندما تجرى التصحيحات الخاصة بتذبذبات هذا المعامل نتيجة للاختلافات التى قد تحدث فى درجة الحرارة وبعض العوامل الأخرى التى تسود فى البيئة المحتوية على الجزيئات الفيروسية أثناء ترسيبه . وبذلك يكون معامل الترسيب متلازما مع حجم جزيئات الفيرس.

تكاثر الفيروسات

من المعروف أن الفيروسات غير قادرة على التكاثر وهى معزولة بعيدا عن خلايا العائل . فلكى تتكاثر يجب أن توجد بخلايا العائل التى تسخرها

لحسابها بمعنى أن وجود جزيئات الفيرس بخلايا العائل تجبر هذه الخلايا على تجهيز البروتين والأحماض النووية الفيروسية اللازمة لتكاثرها كما سبق أن ذكرنا . ولازالت الطريقة التى يتم بها ذلك غير معروفة إلا أنه قد اقترح عدة احتمالات منها مايلى :

(١) أن وجود الفيرس بالخلايا يجعلها تزيد من إفراز بعض الانزيمات المعينـــة .

(٢) للفيرس دورة حياة يجب أن يمضيها داخل خلايا العائل

(٣) وجود الفيرس بخلايا العائل يتسبب عنه تكوين مواد أولية precursors لجزيئات الفيرس وهذه تتكون عن طريق عملية تحول trnsformation تنشط فقط فى وجود جزيئات الفيرس .

(٤) تكوين نظم انزيمية معينة نفرزها جزيئات الفيرس المهاجم ، ونتيجة لذلك تتكون جزيئات فيروسية أخرى من مكونات خلايا العائل .

ومن المــلاحظ أن كل هذه النظريات المقترحة تتجاهل إمكان تكـاثر جزيئات الفيرس عن طريق الانفلاق أو التبرعم أو بأى طريقة أخرى مـــن طرق تكاثر غيره من الخلايا الحية . وبالرغم من احتمال عدم صحة أى مـــن النظريات السابق ذكرها إلا أنها قد شجعت على البحث والدراسة للتعرف على طريقة تكاثر الفيروسات . وقد ثبت حالياً أن جزيئات بعض الفيروسات الدائرية أو العصوية قد تتكاثر عن طريق انقسام الجزيئات شأنها شأن الخلايا الحية الأكثر رقياً . فى حالة الفيرس المسبب لمرض الانفلونزا أو المسبب لمرض نيوكاسل New Castle disease فى الدواجن ذات الجزيئات الخيطية الشكل أمكن مشاهدة أجساما كروية spheriodes تنفصل عن هذه الوحدات الخيطية قد تكون نتيجة للانقسام .

طرق زرع الفيروسات

ان الحقيقة المعروفة عن الفيروسات بأنها لاتتكاثر إلا داخل الخلايا الحية للعائل ، تبين أن زراعة هذه الكائنات تختلف كلية عن طرق زرع البكتريات فبدلا من تنمية الكائن الفيروسى يلزم إذن تنمية العائل المصاب نفسه ، وفى حالة النباتات فان ذلك ليس من الأمور الصعبة ، حيث أن الأمراض الفيروسية نادرا ما تقتل النبات ولكن تضعفه فقط ، أما فى حالة الفيروسات الحيوانية يشترط إجراء طرق أخرى ، نلخصها فيما يلى :

١ — طريقة التنمية فى اجنة الدجاج Cultivation in chick embryos

تعتبر أول طريقة استعملت لتنمية الفيروسات فى مزارع نقية بالمعمل . وفى هذه الطريقة يلقح بيض دجاج مخصب ، ومحضن لمدة ٥ — ١٢ يوما ، وذلك بازالة قطعة صغيرة من قشرة البيضة بعد تعقيمها خارجيا ثم توضع قطعة الأنسجة المحتوية على جزيئات الفيرس خلال فتحة تجرى داخل أغلفة الجنين . تقفل البيضة مرة ثانية باستعمال شمع البرافين . بعض الفيروسات يمكنها أن تنمو وتتكاثر داخل أغلفة البيضة وبخاصة الغشاء المعروف باسم Chorioallantois membrane ويمكن أيضاً تلقيح أغلفة الصفار yold sacs لتنمية الفيروسات أو الريكيتزيات .

وتستخدم هذه الطريقة لانتاج الفيروسات التى تستعمل فى إنتاج الفاكسينات وبخاصة فاكسين الجدرى والحمى الصفراء ، والانفلونزا وبعض الأمراض الأخرى .

طريقة جلطة البلازما Plasma clot method

تترك كمية من الدم لتتجلط ثم تلقح البلازما الناتجة فوق الجلطة بالفيرس وقد حورت هذه الطريقة بوضع الجلطة فى كيس مثقب من الكولوديون

وتلقح بالفيرس وهى داخل الكيس . والخلايا الموجودة بالبلازما تستعمل كخلايا عائلة للفيرس ليتكاثر بداخلها ولكن عندما تنفرد جزيئات الفيرس من هذه الخلايا فيمكنها أن تخرج خلال غشاء الكولوديون وبذلك يمكن الحصول على تحضير فيرس خاليا من خلايا الدم . وقد أدت هذه الطريقة فيما بعد إلى استعمال طريقة زراعة الأنسجة .

طريقة زراعة الأنسجة Tissue culture method

وفى هذه الطريقة تستعمل قطع من الأنسجة خالية من التلوث وتزرع فى محلول معقم من الأملاح والجلوكوز المضاف إليها الدم أو خلاصات الأجنة embryo juices ثم تلقح الأنسجة النامية بالفيرس المراد تنميته ثم تحضن المزرعة لفترة من الزمن . وقد مكنت هذه الطريقة من زراعة الفيروسات فى مزارع نقية والحصول على كميات كبيرة من جزيئات الفيروسات اللازمة لانتاج الفاكسينات . ويتميز الفاكسين المتحصل عليه من الجزيئات الفيروسية الناتجة عن مزارع الأنسجة على تلك المتحصل عليها من مزارع أجنة الدجاج ، فى أن ذلك يقلل بدرجة واضحة من الضرر الناتج عن حساسية الجسم المحصن لزلال البيض . والفاكسين الخاص بالتحصين ضد مرض شلل الأطفال المعروف باسم Salk-vaccine ينتج جزيئات الفيرس اللازمة لإنتاجه فى مزارع أنسجة خلايا الكبد النامية فى مزارع صناعية .

تطفر الفيروسات

ومن المميزات الهامة للفيروسات قدرتها على التطفر وثبات الطفرات الناتجة . وظهور السلالات الضعيفة (attenuated) فى قدرتها على إحداث الأمراض تعتبر نتيجة للتطفر . فقد وجد Pasteur (١٨٨٥) أن تنمية فيرس مرض الكلب عدة مرات فى مخ الأرانب تقلل القدرة الممرضة لجزيئات هذا الفيرس على إحداث المرض فى الأرانب .

وقد وجد نفس الشىء فى حالة الفيرس المسبب للقمة المجعدة فى البنجر

curly top of sugar beets عندما يمرر فى نباتات الزربيح *Chenopodium murale* ، فانه يفقد قدرته المرضة فى إصابة نباتات بنجر السكر . وهناك مثال آخر أكثر وضوحا فى فيرس موزاييك الدخان ، فاذا أعديت بــه نباتات طماطم وحفظت النباتات المعداه على درجة حرارة ٣٥°م ثم استعملت عصارتهـــا فى عدوى نباتات *Nicotinia glutinosa* فهى تسبب بقعــاً موضعية فقط لأوراق النباتات المذكورة (شكل ١٨٠ — ١١) ولكنها لاتسبب أى مرض لنباتات الدخان بالرغم من قدرة الفيرس على النمو والتكاثر بأنسجة هذه النباتات .

وقد أطلق على مثل هذه السلالات اسم السلالات المستترة masked strains ولم يلاحظ بعد قدرة ارتداد هذه السلالات إلى الصورة الممرضة التى نشأت منها .

هذا والفيروسات التى تحمل بواسطة الحشرات قد تضعف قدرتهـــا الممرضة وهى بداخل أجسام الحشرات الناقلة ومثال ذلك فيرس إصفرار نباتات الاستر Aster yellow virus حيث يفقد قدرته الممرضة لهذه النباتات إذا حفظت الحشرات الحاملة له على درجة ٣٢°م لمدة ١٢ ساعة .

وقد يصحب حدوث التطفر تغيير محتويات جزيئات الفيرس من الأحماض الأمينية فى حين أنه لاتختلف محتوياتها من الأحماض النووية . فمثلا وجد أن وجه الاختلاف بين A ، B من فيرس الانفلونزا هو اختلاف محتوياتها من الأحماض الأمينية . كما أن هناك ست سلالات من فيرس موزاييك الدخان لا تحتوى على الهيستدين أو الميثايونين فى حين أن السلالة المميتة lethal strain من هذا الفيرس تحتوى على هذين الحمضين الأمينين . وعادة لايختلف التركيب الانتيجينى للسلالات الفيروسية حيث أن السلالات المعروفة لفيرس موزاييك الدخان TMV تتشابه فى تركيبها الانتيجينى . وحدوث تطفر فى الفيروسات كما هو الحال بالبكتيريا والدروسوفيلا يحدث تلقائيا أو عفويا . وبدون شك

فان عددا كبيراً من هذه الطفرات قد يمر بالطبيعة بدون ملاحظة . ومعدل التطفر فى الدروسوفيلا يقدر فى المتوسط بحوالى ١/ مليون حشرة ، وفى البكتيريا ١/ مائة مليون خلية / دورة انقسامية . وحيث أن النبات المصاب بالفيرس قد يحتوى على مايقرب من ١٠^١٢ جزىء تنتج عن كمية صغيرة فى اللقاح فاننا نتوقع وجود طفرات فيروسية يتراوح معدلها بين ١/ عشرة آلاف إلى ١/ مليون جزىء فيرسى . ومن المعروف أن طفرات الفيرس تنمو بدرجة أبطأ من الجزيئات الأصلية التى نشأت عنها . وهذا قد يثير الاستفسار عن مدى ماتعنيه كلمة نمو فى حالة الفيروسات . ويبدو من الناحية السطحية غير الدقيقة أن المقصود بالنمو هو التبلور . حيث يعمل اللقاح كالنواة التى تبدأ منها عملية التبلور التى توفر لخلايا العائل المواد اللازمة والتى يمكنها التبلور ، ولكن هذا غير صحيح بدليل أن الفيروسات لا يمكنها أن تتكاثر بهذا الطريق فى الدم المصاب عندما يستخرج من الحيوان أو فى عصارة النبات المصاب عندما تستخلص منه . فلكى تنمو جزيئات الفيرس وتتكاثر يشترط وجودها بالخلايا الحية . من ذلك نرى أن الجزيئات الفيروسية ليست مجرد بلورات كيمائية تتكاثر تلقائيا من نفسها self-reproducing ولكنها تحدد الطريق لتكاثرها بمعنى أنها تؤثر على خلايا العائل لكى ينتج المواد اللازمة لها ، فهى بمثابة منظم أو مصمم للنظم الانزيمية لخلايا العائل مسخرة أياها لصالحه. والفيرس لايعمل على تحويل البروتين النباتى إلى بروتين فيرسى ، بل على حث النبات على تكوين بروتين فيرس من جديد . ويبدو أن سلوك الفيروسات فى الخلايا المصابة يشبه كثيرا سلوك العوامل الوراثية genes حيث أن لها القدرة على التكاثر الذاتى وعند وجودها بالعائل فهى تفرض إرادتها على خلاياه لتكوين المزيد من مواد الفيرس البنائية . هذا وحجم الجينات يقارب حجم جزيئات الفيرس (٥٠ ميللى ميكرون فى المتوسط) وأحيانا تعتبر الفيروسات جينات سائبة أو منفصلة عن الكروموسومات وهى فى هذه الحالة يطلق عليها العوامل القابلة للترشيح أو عوامل التحويل (راجع الباب الرابع) . ويجب أن نذكر هنا أنه لم يشاهد أى نشاط تنفسى للتحضيرات الفيروسية مهما كان تركيزها .

طرق مقاومة الفيروسات

بما أن كل الفيروسات تسبب أمراضاً للنبات أو الحيوان لذلك فمن اللازم ، إلا فى الحالات الخاصة التى تقوم فيها الفيروسات باصابة الآفات المختلفة وتعمل على اهلاكها ، إيجاد طرق لايقاف النشاط الضار للفيروسات ومن السهل جدا إهلاك الوحدات الفيروسية أثناء واحد أو أكثر من الأطوار المختلفة التالية : (١) قبل دخولها لخلايا العائل ، (٢) أثناء دخولها خلايا العائل (٣) أثناء تكاثرها بداخل خلايا العائل .

التحصين Immunization

إذا أمكن تحصين جسم الحيوان بالأمصال المحتوية على الأجسام المضادة للفيروسات الممرضة ، يمكن لهذه الأجسام المضادة أن تتحد بجزيئات الفيرس قبل وصوله إلى خلايا العائل ويمكن بذلك احباط النشاط الممرض لجزيئات هذا الفيرس . والتحصين الفعال الذى قد يحدث عقب عدوى الخلايا بالفيروسات قد يمنع أيضاً مهاجمة مثل هذه الفيروسات للأجسام المحصنة ، كما أن تلقيح الحيوانات بالفيروسات المضعفة يمكنها اعطاء نفس التأثير . وإذا كانت كل الأمراض الفيروسية يمكن التحصين ضدها بهذه الطريقة كما يحدث فى حالة التحصين ضد مرض الجدرى مثلا ، إذن فليس هناك أى داع لايجاد طرق أخرى لمقاومة الأمراض الفيروسية التى تصيب الانسان والحيوان ولما كان هذا ليس هو الواقع لذلك فهناك طرق أخرى للمقاومة .

المقاومة الكيماوية

هناك بعض أنواع الفيروسات تتطلب وجود بعض المواد الكيماوية لحدوث ادمصاص جزيئات الفيرس بخلايا العائل . فمثلا بعض سلالات الفيرس البكتيرى التى تهاجم البكتيريا *E. coli* يتطلب وجود التربتوفان ليتم الادمصاص بخلايا العائل . وحيث أن بعض الفيروسات البكتيرية تتطلب أيونات الكالسيوم

لحدوث الادمصاص فانه يمكن ايقاف هجوم هذه الفيروسات على الخلايا . البكتيرية باضافة بعض المواد التى تجعل الكالسيوم بها فى صورة غير صالحة للفيرس .

وقد ذكر أن هناك أمكنه تخصصية على الخلية لحدوث الادمصاص . وقد أمكن تغيير الأماكن المتخصصة لاستقبال جزيئات الفيرس عن طريق انزيم يعرف باسم (RDE) receptor destrouying enzyme وأمكن عن هذا الطريق منع إدمصاص جزيئات الفيرس على خلايا العائل . ومن أمثلة ذلك أمكن تغيير مواضع استقبال جزيئات فيرس الانفلونزا على خلايا رئة فئران التجارب باعطائها الأنزيم (RDE) عن طريق الفتحات الأنفية . وقد وجد أيضاً أن بعض عديدات التسكر يكون لجزيئاتها القدرة على ادمصاص جزيئات الفيرس ، فوجود مثل هذه المركبات فى أنسجة العائل تعمل بطريقة تنافسية على منع ادمصاص جزيئات الفيرس بخلايا العائل .

وحيث أنه من غير المتوقع منع كل جزيئات الفيرس من مهاجمة خلايا العائل لذلك فيجب أن تتبع بعض الطرق التى من شأنها منع أو ايقاف نكاثر الفيرس داخل خلايا العائل ، وقد تبدو هذه الطريقة صعبة التحقيق ولكن الحقيقة المعروفة عن اختلاف البروتينات النووية الفيروسية virus nucleoproteins عن البروتينات النووية لخلايا العائل قد سهلت كثيرا من هذا الاجراء . فاذا وجدت مادة يمكنها أن تتدخل فى تجهيز البروتينات النووية للفيروسات ولكنها لاتؤثر على تكوين البروتينات النووية لخلايا العائل فيمكننا بذلك ايقاف تكاثر الفيرس . وليس من السهل ايجاد مثل هذه المادة ذات التأثير الاختيارى أو التفريقى حيث أن العمليات البيوكيمائية الطبيعية للخلايا وكذا تكوين جزيئات الفيرس بداخلها تكون مترابطة بدرجة كبيرة . وبدراسة الفيروسات البكتيرية وجد أن بعض مشابهات الأحماض الأمينية مثل حمض التربتوفان ، الفنيل الأنين ، يمكنها أن توقف تكون جزيئات البكتيريوفاج ، كما وجد أيضاً بدراسة

الفيروسات الحيوانية أن مادة الاثيونين Ethionine يمكنها أن تقلل تكاثر جزيئات فيرس الأنفلونزا ويمكنها ايقاف تكاثر فيرس شلل الأطفال كلية فى مزارع الأنسجة .

وقد ثبت أن البكتيريا *Klebsiella pneumonia* تفرز عديدات تسكر لها القدرة على منع تكاثر الفيرس المسبب لمرض التهاب الغدد النكفية (Mumps) وكذلك تكاثر الفيرس المسبب للالتهاب الرئوى للفئران عند تنميتها فى أجنة البيض كما أنها تمنع تكاثر الفيرس الأخير داخل خلايا العائل المصاب وقد فسر هذا الفعل المانع للتكاثر على أساس حدوث التنافس بين جزيئات الفيرس وعديدات التسكر المفرز على بعض المحتويات الهامة لخلايا العائل .

وهذا وقد أمكن منع تكاثر جزيئات بعض الفيروسات بطرق بيولوجية فاذا دخل فيرس معين إلى الخلية فانه يحدث تغييرات فى المواضع المستقبلة أو قد تستهلك معظم المحتويات الحاوية اللازمة لدخول وتكاثر الأنواع الفيروسية الأخرى .

وقد أمكن استغلال هذه الظاهرة فى عمليات مقاومة الأمراض الفيروسية حيث أمكن تلقيح حيوانات التجارب بسلالة مضعفة ومأقلمة على النمو فى جنين من الفيرس المسبب لمرض canine-distemper فى الماشية ، والتى ليس لها القدرة على إحداث المرض . ولكن يمكنها التكاثر فى خلايا العائل وتتنافس هذه السلالة بدرجة ملحوظة وواضحة مع السلالات الممرضة من نفس الفيرس على المحتويات الحاوية للعائل ونتيجة لذلك لايحدث المرض .

وفى الفيروسات الحيوانية أيضاً نجد أن الاصابة تكون محدودة حيث أن النظام الدفاعى للجسم يعمل على تكوين الأجسام المضادة التى تهلك الجزيئات الفيروسية المهاجمة . ولكن فى حالة الاصابات النباتية يبدو أن هناك طرقا أخرى يدافع بها النبات عن نفسه تجاه الفيرس المهاجم . وتغلب النباتات على الاصابة قد يتم عن طريق تغيير العمليات الأيضية فى خلايا العائل .

واستعمال المواد الكيماوية السامة لمقاومة الأمراض الفيروسية لم تلاق نجاحا كبيراً حيث أن الجزيئات الفيروسية تكون غير فعالة فسيولوجيا عندما تتواجد خارج خلايا العائل ، كما أنها تكون محمية بدرجة كبيرة أثناء وجودها أيضاً بخلايا العائل .

وعلى العموم فالمادة الكيماوية التى يمكن استعمالها فى مقاومة الفيروسات داخلياً antiviral chemotherapeutic substance يشترط فيها مايلى من خصائص :

١ - يجب أن يكون لها القدرة على قتل الفيرس قبل وصوله إلى خلايا العائل أى قبل أن يصبح فى مأمن من فعل المادة الكيماوية .

٢ - يجب أن تعمل على منع التصاق أو ادمصاص جزيئات الفيرس بخلايا العائل .

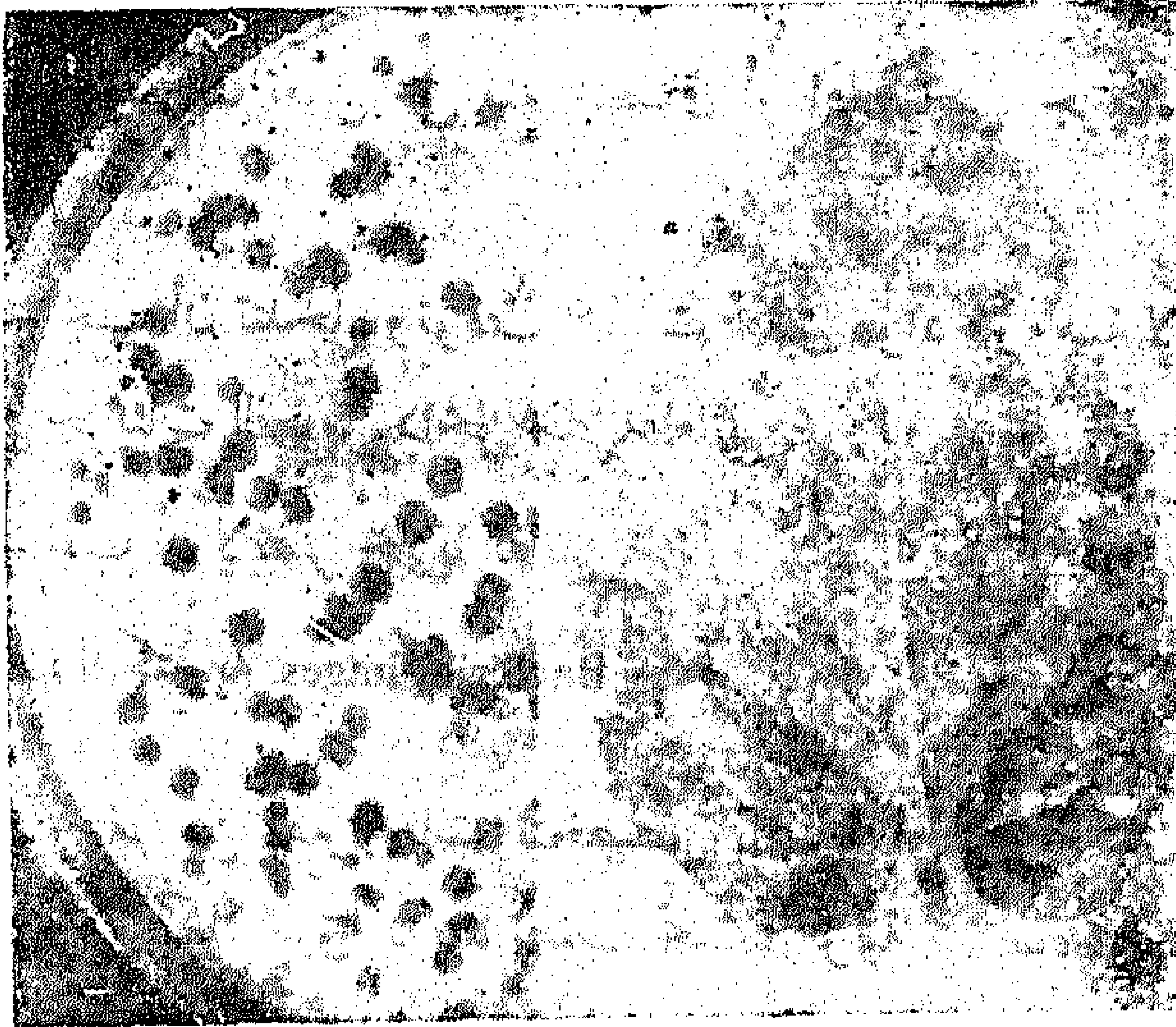
٣ - يجب أن تتدخل وتوقف عمليات تخليق مواد فيروسية لازمة لانتاج المزيد من جزيئات الفيرس داخل خلايا العائل .

٤ - يجب أن لاتضر خلايا العائل .

الفيروسات البكتيرية Bacteriophages

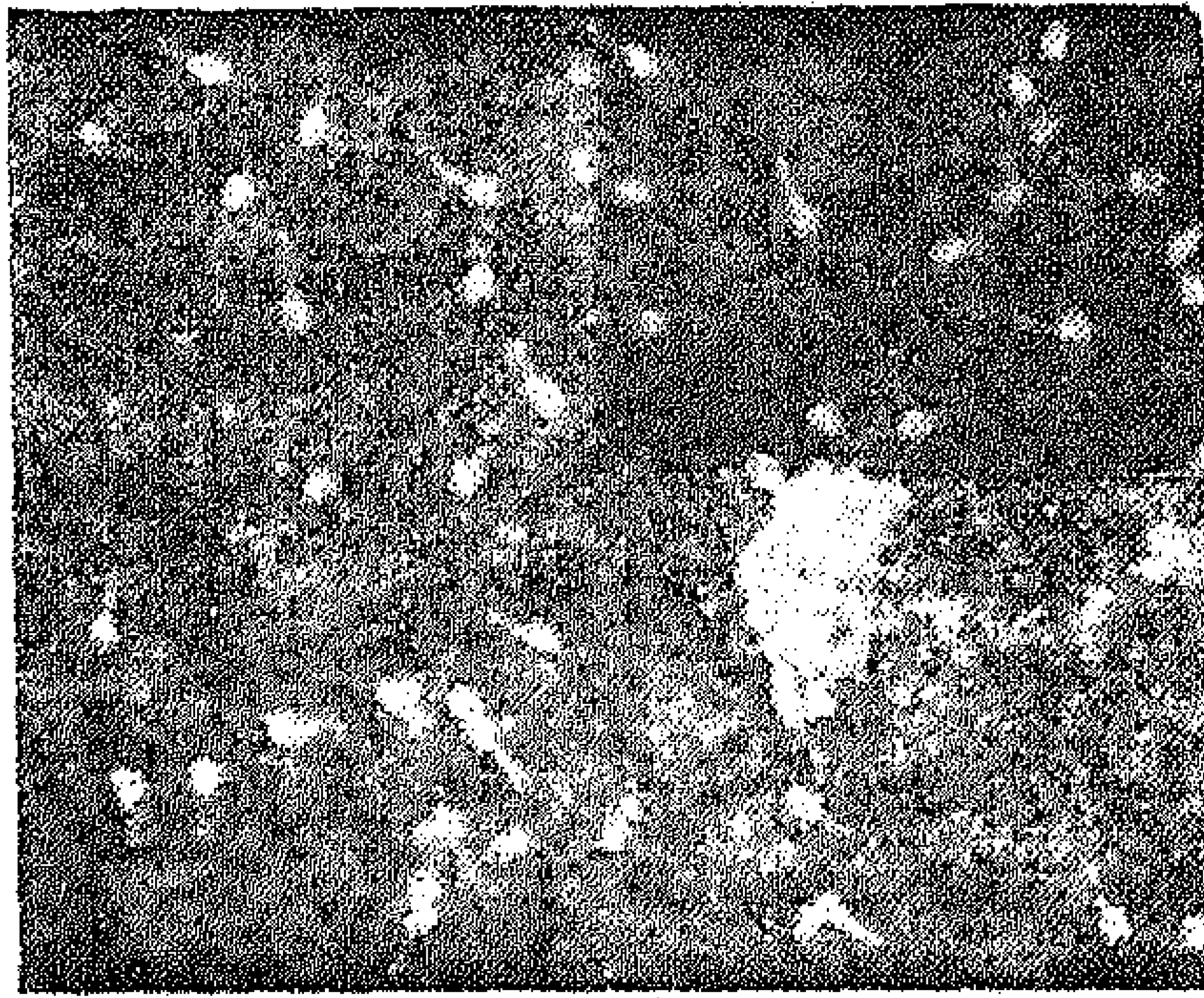
مجمـوعة من الفيروسات تتخصص باصابة الخلايا البكتيرية وتتكاثر بداخلها . وهى كما سبق أن بينا تصف تحت الرتبة Subor *Phagineae* وكان d'Herelle (١٩٢٦) أول من لاحظها عندما شاهد ظهور مناطق خالية من النمو « Plaques » فى بعض المستعمرات البكتيرية حيث تتحلل الخلايا البكتيرية فى هذه المواضع . كما وجد أيضاً أن العامل المسبب للتحلل يمكن نقله إلى مزارع بكتيرية جديدة حيث يمكنه أن يتكاثر ويزداد تعداده بها . وقد اقترح d'Herelle اسم بكتيروفاجات Bacteriophage لهـذا العامل والاسم يعنى آكلات البكتيريا bacteria-eaters .

ويمكن عزل الفيروسات البكتيرية (البكتيريوفاجات) مباشرة من مياه الأنهار ، وبراز الانسان أو الحيوان ، ومياه المجارى ، ومن الأرض ، كما يمكن ذلك أيضاً فى بعض الأحيان من المزارع البكتيرية القديمة. والبكتيريوفاجات تتطفل على أنواع بكتيرية عديدة مؤدية إلى تكون مناطق خالية من النمو على البيئات الصلبة (شكل ١٨٣ ب) . أو مسببة لإزالة تعكير المزارع السائلة . ويمكن تقدير عدد جزيئات البكتيريوفاج بطرق شبيهة بتلك الخاصة بتقدير تعداد جزيئات الفيروسات ، (١) طريق التخفيف إلى الحد الأدنى الذى يحدث ترويق لمزارع البكتيرية السائلة ، (٢) تقدير عدد المناطق الرائقة Plaques التى تتكون بالمزارع الصلبة والتى تكون قد امتحت بانتظام بكمية كبيرة من اللقاح البكتيرى (شكل ١٨٣ — ب) .



شكل ١٨٣ : لوحة لمقارنة تكون المناطق الخالية من النمو plaques فى مزارع البكتيريا بالبقع المحلية التى تنشأ عن إصابة أوراق النباتات بتحضيرات فيروسية. وفى كلا الحالتين يمكن عن طريق العد المباشر تقدير درجة تركيز التحضير الفيرسى (ا) ورقة من نبات Nicotinia glutinosa بعد عدواها بتحضيرين مختلفى التركيز من أحد سلالات فيرس موزايك الدخان ، النصف الأيسر من الورقة أعدى بتحضير ذو تركيز ١ ملجرام / مل ، النصف الثانى من الورقة أعدى بتحضير ذو تركيز ١٠ ملجرام / مل . (ب) مناطق خالية من النمو البكتيرى فى مزرعة لأحد أنواع الجنس *Rhizobium* بعد عدواها بتحضير من الفيرس البكتيرى .

وفى كلا الطريقتين فانه عقب ادمصاص جزيئات الفيرس البكتيرى ، وتأديته لوظيفته التحليلية للخلايا ، نجد أن الخلايا المقاومة لفعلها تبدأ فى التكاثر لتسبب تعكيرا جديدا للمزرعة السائلة أو مستعمرات صغيرة ثانوية بداخل المناطق الخالية من النمو Plaques بالمزارع الصلبة. وهذه الخلايا المقاومة تمثل طفرات تلقائية تتكون فى المجموع الحساس لفعل البكتيريوفاج وليس نتيجة للتطبع أو التأقلم للنمو فى وجود البكتيريوفاج كما كان يعتقد من قبل. والطفرات المقاومة للفيروسات البكتيرية تستعمل كثيرا فى الدراسات الوراثية .



شكل ١٨٤ : صورة ألكتروميكروسكوبية لبعض جزيئات الفيرس البكتيرى التابعة للسلالة T2 (مظللة بالكروميوم) لاحظ الرأس والذيل . لاحظ أيضا انطلاق عدد كبير من الجزيئات من خلية بكتيرية قد تم تحللها .

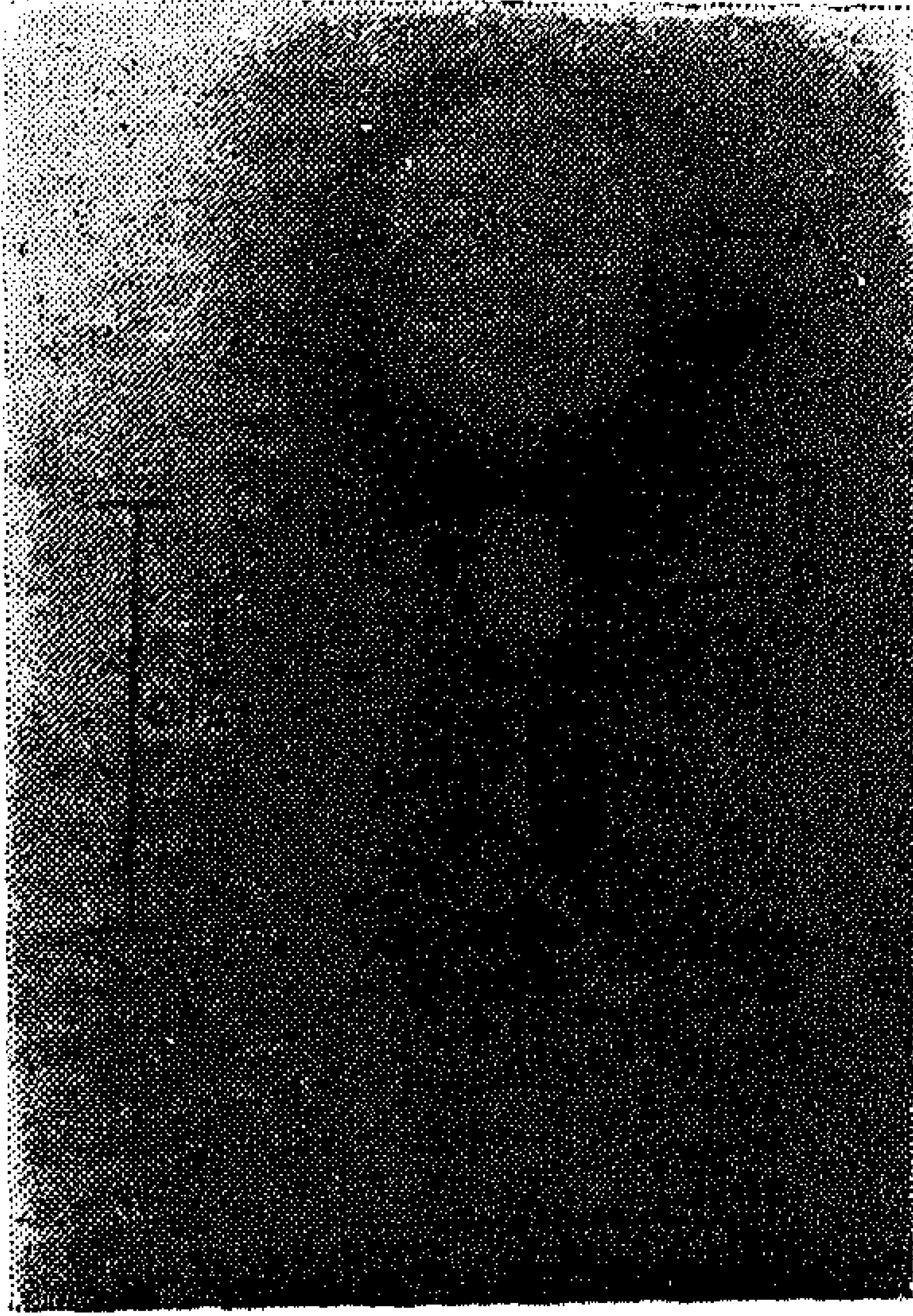
وقد تم دراسة طريقة عمل البكتيريوفاجات على خلايا البكتيريا باستعمال المجهر الضوئى والألكترونى مع إجراء عد للخلايا البكتيرية وجزيئات الفيرس البكتيرى . وقد تبين أن التصاق جزيئات الفيرس بخلايا البكتيريا يحدث مباشرة بعد عدوى المزرعة وقد وجد أن الوحدة الفردية من الفيرس البكتيرى التابع للسلالة T والخاص باصابة البكتيريا *E.coli* يتخذ شكل الحيوان المنوى بمعنى أن يكون له رأس مستدير أو ذا عدة أوجه Polyhedral متصلة بذيل رفيع (شكل ١٨٤ ، ١٨٥) .

وقد وجد أن متوسط قطر رؤوس جزيئات الفيروسات البكتيرية التابعة

للمجموعة T تصل إلى ٤٠ انجسترام ومتوسط قطر الذيل ١٠٠ انجسترام والأخير يصل متوسط طوله فى هذه المجموعة من الفيروسات إلى ١٦٠٠ انجسترام (شكل ١٨٥) . ومن الناحية الكيماوية . فان هذه الوحدات تتكون من البروتين وDNA والجزيئات الكاملة لاتتأثر بفعل الإنزيمات المعروفة باسم

nucleases
(DNA ase or RNA ase)

ويمكن انفصال البروتين عن DNA فى جزىء الفيرس بجملة طرق . وقد وجد أن DNA يتواجد بمركز الرأس ويكون محمياً بغلاف من البروتين أما الذيل فهو يتكون من البروتين . وقد وجد أيضاً أن مكان اتصال جزىء الفيروس البكتيرى بالخلية البكتيرية هو نهاية الذيل . وتشاهد عدة وحدات فيروسية متصلة بسطح



شكل ١٨٥ : صورة الكتروميكروسكوبية تبين تفاصيل تركيب جزىء واحد من الفيروسات البكتيرى التابعة لمجموعة T — لاحظ الرأس A كما يلاحظ اتصالها بالمحور الرئيسى للجزىء والمشار إليه B C ألياف الذيل tail fibers لاحظ اتصالها بالطرف الآخر من المحور الرئيسى للجزىء D تمثل الغلاف المنقبض Contracted sheath المغلف للذيل .

الخلية البكتيرية المصابة (شكل ١٨٦) عن طريق أطراف ذيولها . والعدوى تتم بحقن DNA الفيرسى بداخل سيتوبلازم الخلية البكتيرية . ويتبقى الغلاف البروتينى من الجزىء الفيرسى خارج الخلية . وقد وجد فى حالة مجموعة T من الفيروسات أن الذيل يمكنه الانقباض أثناء عملية حقن DNA الفيرسى بداخل الخلايا البكتيرية .

كما لوحظ أن عدداً كبيراً من هذه الجزيئات يدمص أو يلتصق بالخلية

البكتيرية الواحدة (شكل ١٨٦). وقد وجد أن الادمصاص أو الالتصاق هو عبارة عن عملية كيماوية ففي حالة الفيروسات التابعة لمجموعة T الخاصة باصابة البكتيريا *E. coli* لوحظ أن وجود tryptophane ضروري لحدوث هذا الارتباط أو الادمصاص كما وجد أيضاً أنه قد يكون لبعض مشتقات الحمض الأميني المذكور نفس التأثير على حدوث الادمصاص ومن الغريب أن مركب الأندول indole والذي يمكن للخلايا البكتيريا أن تنتجه بتحليلها للتربتوفان يمنع حدوث الادمصاص ؛ وهذا قد يدعونا



شكل ١٨٦ : الصورة العليا — لبعض خلايا البكتيريا *E.coli* يدمص سطحها عدد من جزيئات فيروسية تابعة للمجموع T4 الصورة السفلى : صورة مكبرة لأجزاء من البكتيريا *E.coli* يدمص عليها جزيئات من الفيرس البكتيري . لاحظ الرأس ذو السطوح المتعددة ، ولاحظ أن الالتصاق يكون عن طريق الذيل .

إلى الاعتقاد أن الخلايا البكتيرية تمتلك وسيلة الدفاع عن نفسها تجاه الفيرس المهاجم . وقد وجد أن بعض جزيئات الفيروسات البكتيرية يتطلب وجود أيونات الكالسيوم لكي تدمص على خلايا عائلها البكتيري . وكما سبق أن ذكرنا أن هناك حالة مشابهة في الفيروسات الحيوانية حيث يتطلب جزيئات فيرس الأنفلونزا التي تنمو داخل خلايا الدم وجود سكريات معينة لتصل وتدمص بكرات الدم الحمراء للعائل .

وعقب حدوث الادمصاص لايحدث أي تغير لمدة عشرين دقيقة (في حالة الفيروسات البكتيرية لمجموعة T والتي تصيب البكتيريا *E. coli* على درجة ٣٧° م) ثم يشاهد زيادة مفاجئة في عدد وحدات الفيرس البكتيري

وقد أمكن أيضاً من الدراسات الالكترو ميكروسكوبية مشاهدة انتفاخ الخلايا البكتيرية ثم انفجارها لينطلق منها عدد كبير من جزيئات الفيرس البكتيرى ويعرف هذا النوع من الفيروسات بالفيروسات التحالية Iytic bacteriophages .

وفترة الركود (٢٠ دقيقة) التى تلاحظ فى حالة أصابة البكتيريا *E. coli* ببعض سلالات (ت T) من الفيرس ، قبل عدوى الخلايا وانفجارها يبدو أنها لازمة لتكاثر جزيئات الفيرس داخل الخلايا ، وهذه العملية فى حد ذاتها (أعنى التكاثر) عملية تبدو معقدة ، حيث أنه فى الدقائق الأولى عقب العدوى لاتشاهد جزيئات فيروسية كاملة إذما كسرت الخلايا خلال فترة الركود بل يشاهد أجسام ميدئية لجزيئات الفيرس Prophage كما قرر دورمان Doermann (١٩٥٤) أنه فى حالة الاصابة تظل الطبقة البروتينية المغلفة لجزىء الفيرس البكتيرى خارج الخلية وأن ما يدخل إليها ويتكاثر بداخلها هو محتويات جزىء الفيرس البكتيرى من الأحماض النووية . وقد يحدث ارتباط وراثى genetic combination مع الأحماض النووية الأخرى المتواجدة بالخلايا وقرب انتهاء فترة الحضانة يمكن ملاحظة الزيادة الفعلية فى عدد جزيئات الفيرس البكتيرى داخل الخلايا المصابة . ومن الملاحظ أيضاً أن تكاثر جزيئات الفيرس البكتيرى لايتم بداخل الخلايا الميتة .

وبعض الفيروسات البكتيرية لاتقضى كلية على مزرعة العائل ولكنها تحلل فقط عدداً من خلاياها . والخلايا التى لاتتحلل قد تحمل جزيئات الفيرس البكتيرى وعند نقل لقاح منها إلى بيئة جديدة يحدث أن يؤثر الفيرس المنقول على عدد قليل من خلايا المزرعة الجديدة أيضاً وبخاصة عندما تتقدم المزرعة فى السن .

وفى الحقيقة فان البكتيريوفاج يتكاثر بدرجة محدودة فى خلايا العائل وبذلك فهو يعيش بداخلها إلى ما لانهاية ، وتمثل هذه الظاهرة نوعا مـــن

المعيشة النفعية symbiosis ويعرف هذا النـــوع من البكتريوفاج باسم temperate or lysogenic type تمييزا له عن النوع الآخر من الفيروسات التى يعمل على تحليل الخلايا النامى بها ، والمعروفة باسم الفيروسات التحللية Virulent or lytic type .

والمزارع البكتيرية التى تصاب بالنوع الاول (lysogenic type) لا يمكنها أن تتخلص من جزيئات الفيرس المتواجدة بداخلها . حيث يبدو أن جزيئات هذا النوع من الفيروسات البكترية تكون قريبة أو مرتبطة بالجهاز الوراثى للخلية الحاملة له . وقد وجد أنه فى حالة البكتريات التابعة لجنس *Salmonella* والتى تحمل عادة فيروسات بكتيرية من النوع temperate أن هذه الفيروسات يمكنها أن تحمل الصفات الوراثية من خلية إلى أخرى (راجع ظاهرة transduction)

وكغيرها من الفيروسات فان البكتريا يوفاج عموماً تكون ذات قدرة تخصصية مرتفعة الا أنه فى بعض الحالات تكون الخلية الواحدة حساسة لفعل نوعين مختلفين من البكتيريوفاج . ويبدو أن هذين النوعين من الفيروسات يتكاثران منفصلان كل عن الآخر داخل الخلية البكتيرية الحاملة لهما . وللفيروسات البكتيرية القدرة على التطفر كغيرها من الفيروسات . ويتم ذلك أثناء تكاثرها ، وعن طريق التطفر يمكن انتاج سلالات جديدة يمكنها مهاجمة عوامل جديدة لم تكن قادرة على مهاجمتها من قبل . وما من شك فى أن للتوازن الطبيعى بين الفيروسات البكترية وعوائلها البكتيرية دورا كبيراً فى درجة انتشار وتأقلم عوائلها البكتيرية بالطبيعة .

دورة تكاثر الفيروسات البكتيرية التابعة للنوع المعروف باسم

Temperate or lysogenic

عندما تصاب خلية بكتيرية بجزيئات فيروسية من النوع التحللى lytic type فان ذلك يؤدى إلى تكوين جزيئات فيروسية بأعداد كبيرة داخل الخلية

المصابة وبعد مدة وجيزة تتحلل وتنطلق الخليـــة منها الجزيئات الفيروسية الناضجة التى يمكنها أن تصيب خلايا جديدة .

وفى حـالة الاصابة بالنوع الآخر من الفيروســـات temperate أو lysogenic فان العدوى عادة لاتقتل الخلية ، ولكن الجزىء الفيرسى المهاجم يمكنه أن يندمج مع المحتويات الوراثية للخلية البكتيرية الحاملة له بطريـــق وراثى يعرف باسم genetic symbiosis وبالرغم من قدرة الفيرس فى هذه الحالة على الالتصاق بالخلايا إلا أنه لايتكاثر بداخلها ولا يؤدى إلى تحللها .

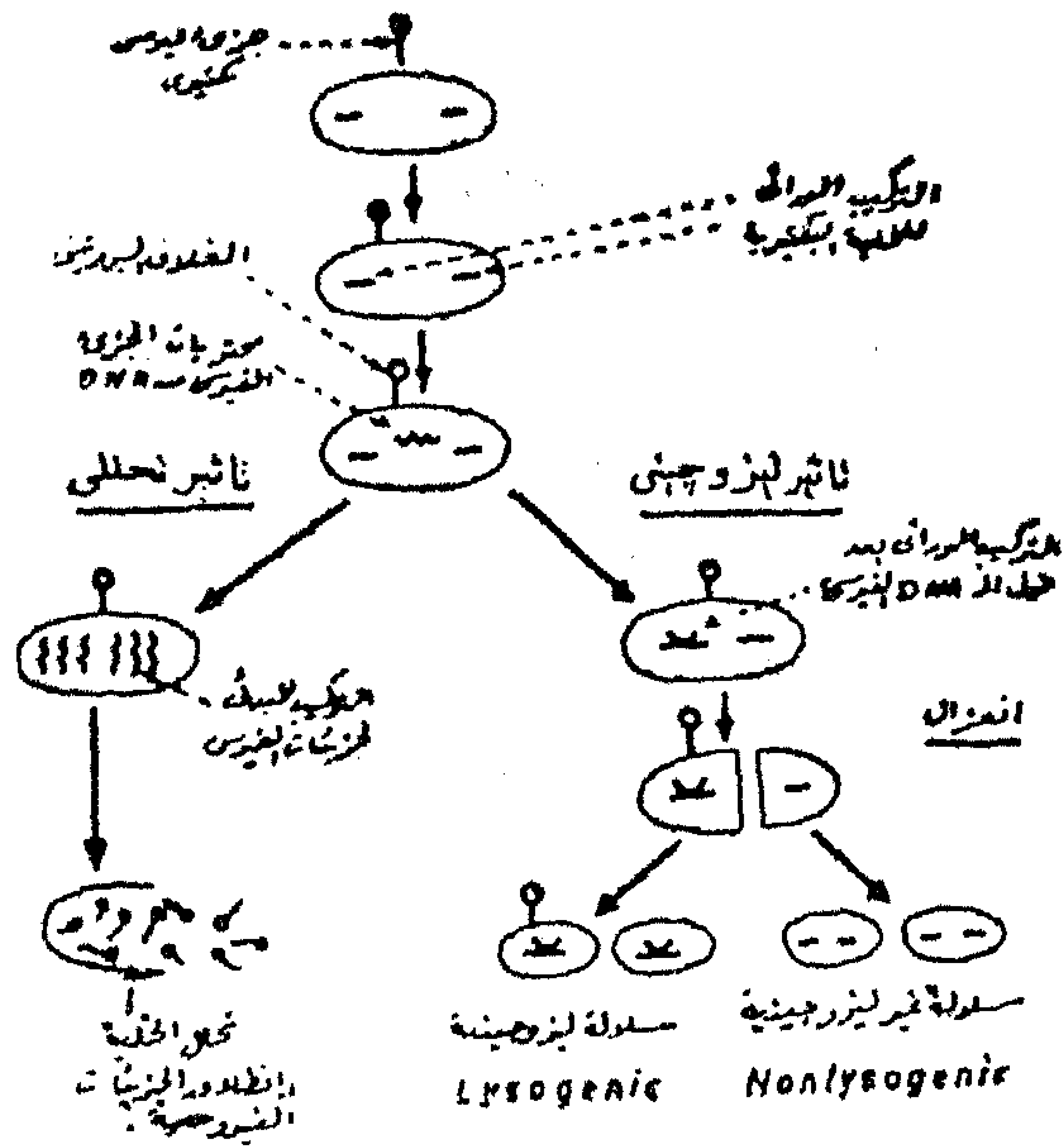
والكثير من السلالات البكتيرية التى تعرف بكونها lysogenic هى تلك التى تحمل فى تركيبها الوراثى القدرة على انتاج واحد أو أكثر من الفيروسات البكتيرية النشطة والتى يمكنها عدوى سلالات بكتيرية أخرى من نفس النوع بطريقة تحللية والأخيرة يطلق عليها السلالات الكاشفة indicator strains فعند تنمية عدد قليل من خلايا السلالة lysogenic على بيئة صلبة مختلطة بمزرعة من السلالة الكاشفة فإنه يظهر نتيجة لذلك بعض المناطق الخالية من النمو plaques . وبالرغم من الحقيقة المعروفة بأن الفيرس البكتيرى النــــاتج لايمكنه التكاثر فى الخلايا lysogenic ولا يقدر على تحليلها إلا أنه يمكنه ذلك مع خلايا السلالات الكاشفة . وعادة يمكن عزل بعض بكتيريات من السلالة الأصلية تعرف بأنها nonlysogenic بمعنى أنها تكون حساسة للفيرس البكتيرى الناتج . وعند زراعة هذه البكتيريات فى وجود الفيرس فانه تتكون مناطق خالية من النمو plaques يمكن أن يشاهد بها عدد قليل من المستعمرات الصغيرة الحجم . وعند عزل هذه المستعمرات الصغيرة واختبارها نجد أنه يمكن تمييزها إلى نوعين من الخلايا (شكل ١٨٧) .

١ — خلايا nonlysogenic وهذه تمثل طفرة مقاومة لجزيئات الفيرس

بمعنى أنه لايدمص عليها جزيئاته وهذه لايمكنها الدخول والاندماج بالمحتويات الوراثية للخلايا وأنها لاتنتج جزيئات فيروسية جديدة .

٢ — خلايا lysogenic لجزيئات الفيرس حيث أنها تكون قادرة على انتاج جزيئات فيروسية ولكنها لاتتحلل بمعنى أنها تكون مقاومة للتحلل من فعل الفيرس الذى تكونه .

ويبدو أن دورة الفيروسات التابعة للمجموعة « temperate » أكثر تعقيدا من دورة الفيروسات التحللية "virulent or lytic"



شكل ١٨٧ : رسم تخطيطى لدورة الفيروسات التابعة للنوع temperate تبين ادمصاص جزيئات الفيرس وطريق دخول DNA الفيرسى إلى الخلية وحدوث التأثير التحللى لخلايا السلالة الكاشفة والتأثير الليزوجينى للخلايا الأصلية المكونة لجزيئات الفيرس . لاحظ إمكان عزل سلالات لايزوجينية وغير لايزوجينية .

هذا وكيفية تكاثر الفيروسات بداخل الخلايا الحساسة لها (indicator strains) يمكن أن يفسر بأحد التأثيرين التاليين (شكل ١٨٧) :

(١) تتكون الجزيئات الفيروسية الجديدة بطريقة تحللية lytic response تشبه تلك التى تحدث فى حالة الفيروسات التحللية .

(٢) تتكون جزيئات الفيرس الجديدة تحت تأثير ليزوجينى lysogenic بمعنى أن DNA الفيرسى يظل بالخلية فترة من الزمن يندمج فيها على صورة وحدات مبدئية prophage مع النظام الوراثى للخلية البكتيرية ثم يتكاثر معه ليكون السلالة الليزوجينية lysogenic strain .

ويبين (شكل ١٨٧) دورة حياة هذا النوع من الفيروسات وكيفية حدوث التأثيرات المختلفة السابقة الذكر .

اهمية الفيروسات البكتيرية فى الدراسات البكتيريولوجية

ان دراسة الطفيليات الاجبارية والتى منها الفيروسات البكتيرية تعتبر ذات فائدة مزدوجة فهى تضيف إلى معلوماتنا من ناحية خصائص الطفيل نفسه علاوة على إضافتها مزيدا إلى المعلومات الخاصة بالعائل . وفيما يلى سوف نرى كيف أمكن عن طريق دراسة الفيروسات البكتيرية التعرف على كثير من الخصائص البكتيرية : مثل التطفر الوراثى ، وطبيعة الجدر الخلوية .

١ — التعرف على طرز البكتيريا باستعمال البكتيريوفاج

Typing bacteria with bacteriophages

للبكتيريوفاج أهمية كبيرة فى الدراسات البكتيريولوجية العملية ، وبخاصة فى دراسة البكتيريات المسببة للأوبئة المختلفة . مثل تحديد سلالات بكتيريات القولون باستعمال الفيروسات البكتيرية التخصصية التى يفضل استعمالها على الطرق القديمة للميزات التالية :

(١) أنها ثابتة بدرجة كبيرة .

(٢) يمكنها إظهار الفروق البسيطة بين السلالات والتى لايمكن للطرق السيريولوجية إظهارها . فباستعمال الفيروسات البكتيرية أمكن إلى الآن التعرف على ٣٣ طرز من البكتيريا *Salmonella typhi* وبدون شك سوف يكتشف منها المزيد بتقدم الأبحاث فى هذا الطريق وقد ثبت أهمية البكتيريوفاج فى التعرف على سلالات البكتيريا *S. paratyphi* والبكتيريا staphylococci

وعلاوة على ذلك فالعديد من السلالات البكتيرية أمكن تمييزها عن طريق انواع الفيروسات البكتيرية التى تحملها بطريقة غير تحللية lysogenic مثل السلالات الممرضة من البكتيريا *Corynebacterium diphteriae* وقد استخدمت البكتيريوفاج أيضاً فى التعرف على سلالات البكتيريات الممرضة للنبات مثل سلالات البكتيريا *Erwinia amylovora* .

دور الفيروسات البكتيرية فى تصنيف وتعريف البكتيريا

كما سبق أن بينا أنه يعترض تصنيف البكتيريات عدة صعوبات منها غياب التكاثر الجنسى فى غالبية الأنواع البكتيرية ، لذلك فانه من المستحيل إجراء الأختبار البيولوجى المعروف بالخصوبة النوعية . والتفاعلات السيريولوجية الانتيجينية المتبادلة قد تعين علاقات خاطئة فى بعض الأحيان مثل ماتحدث فى أنواع الجنس *Proteus* والريكيتزيات المسببة للحمى التيفوسية وعلاوة على ذلك فانه عند انتخاب الطفرات لكائن بكتيرى معين يلزم دراسة كل من الصفات المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيمائية للتأكد من أن هذه الطفرات ليست تابعة لمجموعة أخرى مختلفة كلية عن النوع الذى تطفر .

والنوع الواحد للفيروسات البكتيرية يتكاثر فقط فى مجال من البكتيريات شديدة القرابة والتى يمكن له أن تجد فيها الأمكنة المناسبة لادمصاصه كما تجد بها الوحدات البروتوبلازمية اللازمة لتكوين DNA الفيرسى الخاص به . كما يمكن لجزيئاته أن تنضج بداخلها . وكذلك الأمر فى حالة البكتيريوفاج lysogenic فقد تجد محتوياتها من الـ DNA فى أماكن مناسبة على كروموسومات

العائل بدرجة تمكنه من التكاثر معها حيثما يتكاثر DNA الخاص بالعائل فإذا وجدت سلالتان بكتيريتان تعتبر lysogenic لنفس الفيرس البكتيرى فلا بد أن يكونا على درجة كبيرة من القرابة closely related وغياب مثل هذه الصفة المشتركة بين السلالتين لايعنى عدم قرابتهما حيث يمكن أن تحدث طفرة يمكنها أن تفسد قدرة البكتيريا التى تميزها بأنها lysogenic لفيرس بكتيرى معين .

وهناك مجال آخر لاستعمال الفيرس البكتيرى لإظهار القرابة (وليس عدم القرابة) بين البكتيريات تتوفر فى الظاهرة المعروفة باسم transduction والتى عن طريقها يمكن لجزيئات الفيرس البكتيرى الناضج فى سلالة بكتيرية أن تندمج كجزىء من كروموسوم الخلية العائلة له وينتقل إلى خلية أخرى حيث يندمج فى نظامها الكروموسومى . والسلالات البكتيرية التى يمكنها إظهار نفس الجينات تكون ذات قرابة شديدة . من ذلك نرى أن استعمال البكتريوفاج فى الدراسات البكتيرية يكون بمثابة اختبارات الخصوبة fertility tests التى تجرى فى الكائنات الأرقى .

المـــراجع

Anderson, T.F. 1960. "Bacterial viruses — Structure and function" in I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier "The Bacteria, Vol. I" Academic Press, New York and London.

Bawden, F.C. 1956. Plant viruses and Virus diseases, Chronica Botanica Co. (3rd Ed.).

Bergery's Manual of Determinative Bactereology, 1957 R S Breed, E C.D. Murray, and A.P. Hitchens, Williams witkins Co. Baltimore Md. U S.A. (7th Ed.).

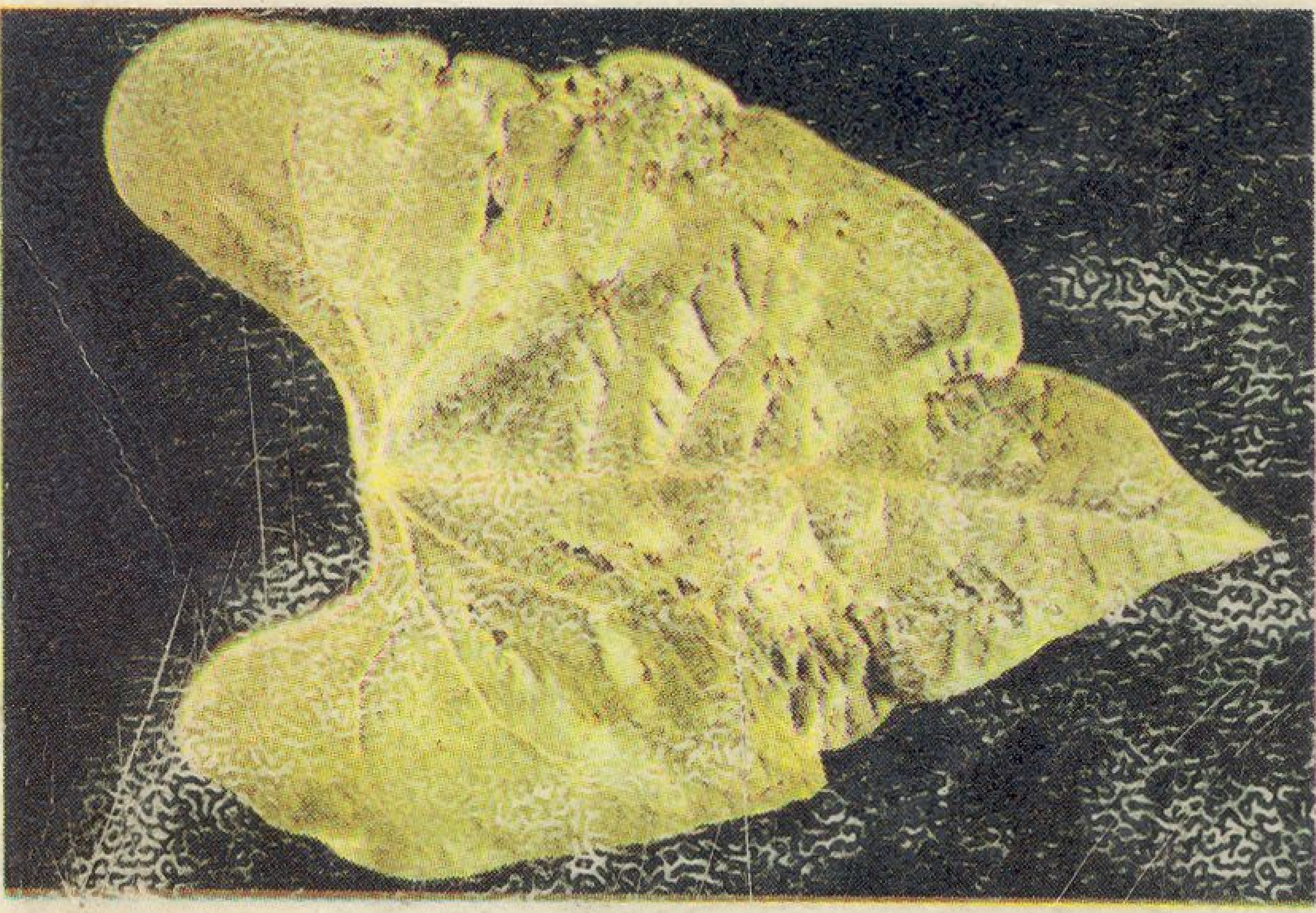
Delbruck, M. 1948. J. Bact. 56 : 1-16.

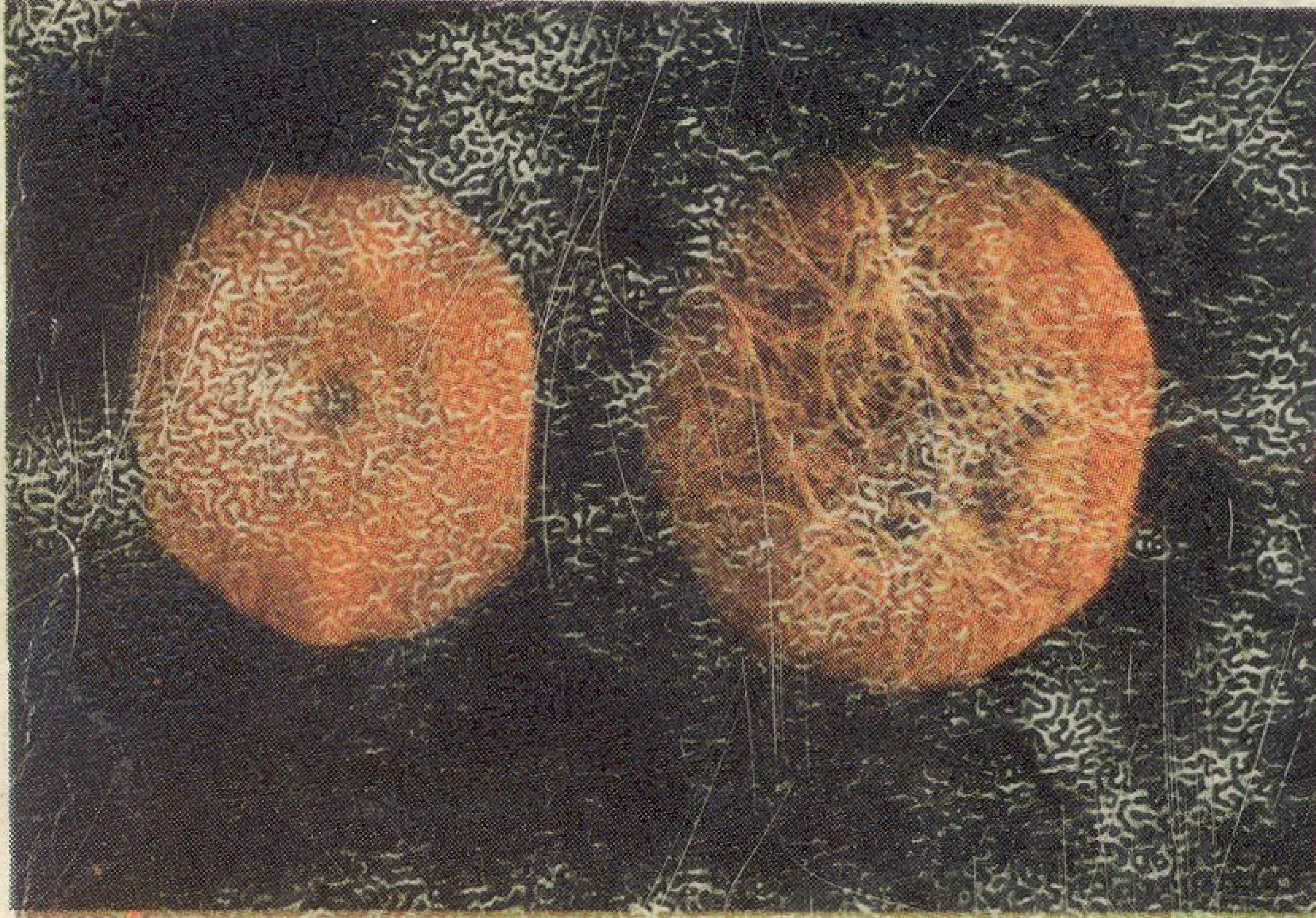
d'Herelle, F. 1926. The bacteriophage and its behavior. William and Wilkins Co., Baltimore.

Doermann. A.H. 1953. The Vegetative state in the cycle of bacteriophage Cold Spring Harber Symp. Quant. Biol. 18 :3—11.

Pelezar, M.J. and R.D. Reid 1946. Microbiology, Mc. Grow-Hill book (2nd Ed.), New York, Torono and London.

Thimann, K.V. 1961. The Life of Bacteria Macmillan Co. New York (3rdEd.).









البكتيريا

كائنات حية دقيقة لا تري بالعين المجردة، بدأت الحياة يوم اذن الله للحياه ان تبدأ علي كوكبنا الأرض. عاشت وتأقلمت في التربة والهواء والماء لا يعيقها ارتفاع ولا يحدها غور أو انخفاض ولا يثنيها بعد المسافات.

عاشت ملازمة للانسان علي جلده وبداخل امعائه ومصاحبة له في مأكله ومشربه مستترة لا تري مجهولة لا تعرف بالرغم مما بدا للناس من أثرها نافعا أكثر مايكون النفع وضارا أشد مايكون الضر ظلت كذلك مجهولة آلاف السنين لايعرف منها الا أثرها الي ان اكتشفت العدسات والميكروسكوبات فتولاها البحث اجيالا واجيال فعرفت تفصيلا وصارت علما يدرس له تطبيقاته في شتي ميادين الحياه زراعة وصناعة وطبا ساهمت جميعها في بناء الحضارة ورفاهية البشرية.

الناشر دار المعارف بالاسكندرية
٤٢ شارع سعد زغلول ٢ ميدان التحرير «المنشية»

طبع الغلاف بالمطبعة الفنية بالقاهرة ـ ت: ٩١١٨٦٢